

**Казахский Национальный университет имени Аль-Фараби  
Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии**

**А.М. Курманова**

**ИММУНОГЕНЕЗ  
ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Алматы, 2021**

**УДК 618 (035.3)**

**ББК 57.1**

**К93**

**Рецензенты:**

доктор медицинских наук, профессор, Л.С. Каюпова, главный научный сотрудник АО «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии»

доктор медицинских наук **Б.У. Наурызбаева**, заведующая курсом визуальной ультразвуковой диагностики КазНУ имени Аль-Фараби

Рекомендовано

Ученым советом ао «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии» (2 ноября 2021 г., протокол № 3)

**Курманова А.М.**

**Иммуногенез гинекологической патологии:** монография. - Алматы, 2021. – 160 с.

**ISBN 978-601-3050436-0**

В монографии представлена информация о последних научных достижениях в области репродуктивной иммунологии, приведены данные о клетках иммунной системы, системе цитокинов, факторов роста, колонизационной резистентности. Обсуждается перспективное направление в иммунологии – изучение иммунных контрольных точек, представляющих семейство рецепторов и лигандов, участвующих в формировании регуляторных сигналов. Освещен иммунопатогенез ведущих гинекологических заболеваний – хронических воспалительных заболеваний, эндометриоза, миомы матки, поликистоза яичников. Книга рассчитана для иммунологов, акушеров-гинекологов, врачей общей практики, а также студентов, интернов и резидентов медицинских вузов.

УДК 618 (035.3)

ББК 57.1

**ISBN 978-601-3050436-0**

© Курманова А.М.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....</b>	<b>4</b>
<b>Введение.....</b>	<b>6</b>
<b>Глава 1. Репродуктивная иммунология.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1 Неспецифический и специфический иммунитет.....</b>	<b>8</b>
1.1.1 <i>Нормальная микрофлора.....</i>	9
1.1.2 <i>Патоген-ассоциированные молекулярные образы.....</i>	14
1.1.3 <i>Дендритные клетки.....</i>	17
1.1.4 <i>Макрофаги.....</i>	17
1.1.5 <i>Натуральные киллеры.....</i>	18
1.2 <b>Главный комплекс гистосовместимости.....</b>	19
1.3 <b>Межклеточные контакты.....</b>	22
1.4 <b>Везикулярные комплексы.....</b>	30
1.4.1 <i>Микровезикулы лейкоцитов.....</i>	34
1.4.2 <i>Микровезикулы нейтрофилов.....</i>	35
1.4.3 <i>Взаимодействие микровезикул нейтрофилов с клетками.....</i>	37
1.4.4 <i>Микровезикулы моноцитов.....</i>	39
1.4.5 <i>Микровезикулы лимфоцитов.....</i>	43
1.5 <b>Иммунные контрольные точки.....</b>	46
<b>Глава 2. Иммунопатогенез гинекологических заболеваний.....</b>	<b>53</b>
2.1 <b>Иммунопатогенез урогенитальных инфекций.....</b>	53
2.2 <b>Иммунопатогенез миомы матки.....</b>	71
2.3 <b>Иммунопатогенез эндометриоза.....</b>	79
2.4 <b>Иммунопатогенез гиперплазии эндометрия.....</b>	101
<b>Глава 3. Иммуноterapia.....</b>	<b>109</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>128</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>130</b>

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

- ИКТ – иммунные контрольные точки  
CTLA4 – цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4  
PD-1 - белок запрограммированной смерти клеток 1  
PD-L1 – лиганд белка запрограммированной смерти клеток 1  
ЭКО - экстракорпоральное оплодотворение  
ЛПС - липополисахариды  
КР – колонизационная резистентность  
РАМП – pathogen associated molecular patterns – патоген-ассоциированных молекулярные образы  
PRR – pattern recognition receptors - образ распознающие рецепторы  
ПМП - противомикробные пептиды  
ДК - дендритные клетки  
ИЛ – интерлейкин  
αФНО – α -фактор некроза опухоли  
CD – cluster designation (differentiation) - дифференцировочный антиген фенотипа клеток  
CD3+ - зрелые Т-лимфоциты  
CD4+ - Тх, Т-хелперы  
CD8+ - Тц, цитотоксические лимфоциты  
CD16+, 56+ или NK – natural killer - натуральные (естественные) киллеры  
CD20+ - В-лимфоциты  
CD25+ - рецептор к ИЛ-2, ранний маркер активации  
CD95+ – семейство рецепторов для сигналов апоптоза  
HLA (DR+) – human leukocyte antigens – антигены лейкоцитов человека  
HBV, HCV - вирус гепатита В, С  
ВПГ – вирус простого герпеса  
ЦМВ - цитомегаловирус  
ИИБЖ – индуктор интерферона бактериальный жидкий  
ИНФ – интерферон  
МНС – major histocompatibility complex  
КОЕ – колониеобразующая единица  
ОМЧ – общее микробное число  
ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем  
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПЧ – вирус папилломы человека  
ВМК – внутриматочный контрацептив  
НСТ-тест – тест восстановления нитросинего тетразолия  
ТФР  $\beta$  - трансформирующий фактор роста  $\beta$   
ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы  
PCR (ПЦР) – полимеразная цепная реакция  
ДНК, РНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, рибонуклеиновая кислота  
АЗКЦ – антителозависимая клеточная цитотоксичность  
ПМЯЛ – полиморфоядерные лейкоциты  
ИДС – иммунодефицитное состояние  
ВЗПМ – воспалительные заболевания придатков матки  
ИФА – иммуноферментный анализ  
РНИФ – реакция непрямой иммунофлюоресценции  
FITC – fluorescein isothiocyanate, PE - phycoerythrin  
ЛАК – лимфокинактивированные киллерные клетки

## ВВЕДЕНИЕ

За последние тридцать лет иммунология из прикладной превратилась в фундаментальную науку, пронизывающей все разделы теоретической и практической медицины. Иммунология как междисциплинарная область знания стала интегрирующей, объединяющей многие проблемы патогенеза и терапии различных заболеваний человека [1].

Одним из предметов исследования иммунологов являются иммунный или антигенный гомеостаз. Регуляция антигенного гомеостаза - осуществление организационного единства и целостности взаимодействующих процессов и всех звеньев иммунной системы, ее клеточных и неклеточных элементов [2].

В 2011 году вручена Нобелевская премия за открытие в области активации врожденного иммунитета и за изучение роли дендритных клеток в приобретенном иммунитете. Эти достижения дали не только понимание как врожденный и адаптивный иммунитет защищает организм, но и открыли новые перспективы в лечении инфекций и рака [3].

Среди гинекологической патологии воспалительные заболевания репродуктивного тракта занимают ведущее место. Урогенитальные персистирующие инфекции обуславливают иммуносупрессию, снижая способность иммунокомпетентных клеток и фагоцитов элиминировать возбудителя из организма [4]. Длительная персистенция приводит к иммунопатологическим реакциям, являющимся пусковым механизмом нарушения репродуктивной функции [5-7].

В настоящее время активно изучаются вопросы взаимодействия отдельных субпопуляций лимфоцитов, факторов неспецифической резистентности и цитокиновой системы, а также взаимосвязь системных и локальных иммунологических процессов при разных клинических вариантах течения воспалительных заболеваний женских половых органов [8].

Хроническая ановуляция как результат воспалительного процесса в придатках матки сопровождается сдвигами гормонального, цитокинового статуса, изменением межклеточных взаимодействий, нарушением апоптоза, и как следствие, приводит к снижению основной функции иммунной системы – иммунологического надзора с развитием опухолевых процессов.

На сегодняшний день создан мощный арсенал иммунотерапевтических препаратов, подразделяющихся по происхождению (экзогенные и эндогенные), способу получения (природные или синтетические) и по действию на клетки-мишени.

Настоящим прорывом в иммунологии стало открытие immune checkpoint therapy, суть которой заключается в блокаде иммунологических эффекторных клеток посредством различных ингибиторов, так называемых «иммунных контрольных точек» (ИКТ). В норме контрольные точки служат для предотвращения аутоиммунного повреждения тканей. С открытием иммунных контрольных точек арсенал иммунотерапевтических препаратов пополнился лекарственными препаратами, способными ингибировать контрольные точки, тем самым, создавая возможность собственному иммунитету уничтожать опухолевые клетки. К ингибиторам контрольных точек относятся человеческие моноклональные антитела, нацеленные на цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA4), белок запрограммированной смерти клеток 1 (PD-1), или его лиганд 1 (PD-L1). Эти препараты можно отнести к группе таргетных препаратов, поскольку они прицельно связываются с конкретными молекулами-мишенями.

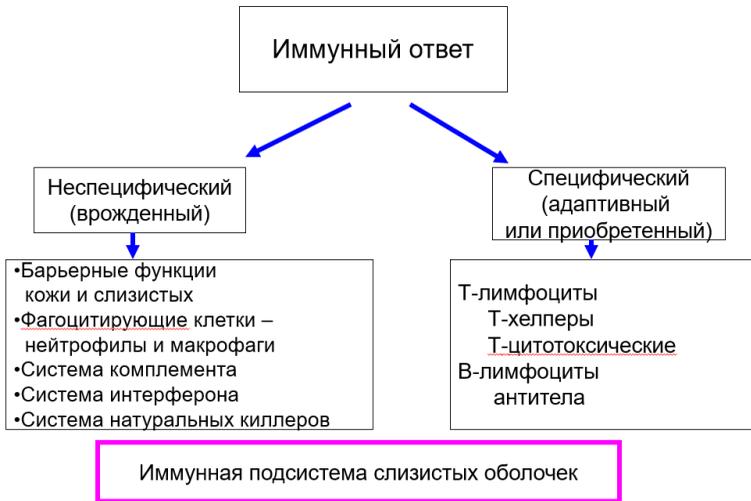
Изучение мембранных микровезикул, представляющих субклеточные структуры размером от 100 до 1000 нм и предназначенных для межклеточного обмена, показало перспективность применения их как для диагностики патологических состояний, так и возможность использования их для доставки лекарств и новых способов клеточной терапии.

# ГЛАВА 1. РЕПРОДУКТИВНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

## 1.1 Неспецифический и специфический иммунитет

Репродуктивная иммунология относится к области медицины, которая изучает взаимодействия между иммунной и репродуктивной системами. В репродуктивной медицине изучается роль иммунной системы в отношении привычного невынашивания беременности и повторных неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [9].

Иммунная система в репродуктивной медицине представляет собой подсистему слизистых оболочек репродуктивного тракта (рисунок 1).



**Рисунок 1 – Иммунная подсистема слизистых оболочек**

Иммунная система представлена врожденной (неспецифической) и приобретенной (специфической) системой.

Врожденный иммунитет является «первым эшелонem обороны», клетки распознают **неспецифически** наиболее общие патогенные антигены (образы патогенности - ЛПС, липопро-теины, пептидогликаны) по принципу «свой - чужой».

Если же инфекции удастся прорваться, вступает в работу «вторая линия» - приобретенный, или адаптивный, иммунитет. Специфический иммунитет (Т-лимфоциты) реагируют на конкретные антигены возбудителей **специфически**. Распознавание которых происходит антигенспецифическими рецепторами, представленными только на лимфоцитах. Основанный на согласованной работе В- и Т-лимфоцитов, он действует посредством специфических к конкретной инфекции антител и клеток «убийц», уничтожающих зараженные клетки и саму инфекцию. В отличие от врожденного иммунитета, способность к распознаванию патогенов которого закодирована генетически, приобретенный иммунитет обучается распознавать новые «образы» врага и сохраняет память о нем, мгновенно «вспоминает», встретившись вновь.

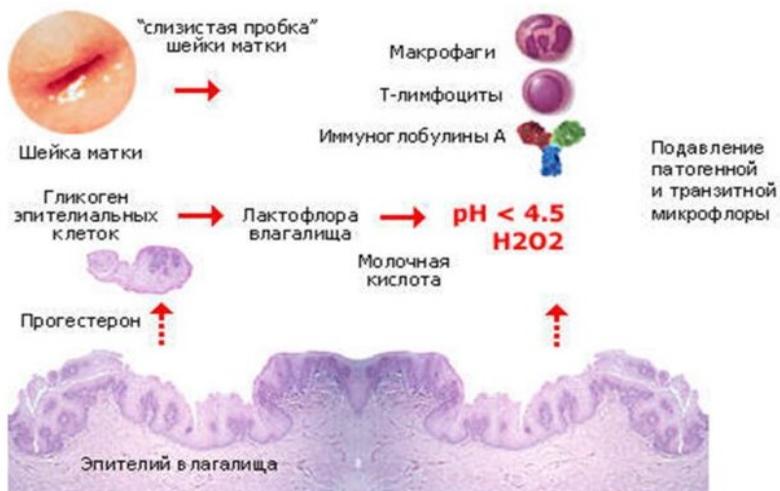
Однако, обеспечивая необходимую защиту, иммунные механизмы скрывают и опасность: если «активационный барьер» слишком низок, иммунитет может активироваться собственными молекулами, что приводит к развитию аутоиммунных и воспалительных заболеваний [10].

Организация иммунной системы изучалась в течение XX века постепенно; в частности, нобелевскими премиями отмечены изучение строения антител и определение механизма распознавания Т-клетками инородных веществ. Однако только с работами Бётлера, Хоффмана и Стайнмана стали понятны механизмы, активирующие врожденный иммунитет и связывающие его с приобретенным иммунитетом.

К защитным факторам врожденного иммунитета относят барьерную функцию кожи и слизистых оболочек, гуморальные факторы (система комплемента, лизоцим (мурамидаза), дефензимы), клеточные элементы (НК-клетки, макрофаги, дендритные клетки, гранулоциты, НКТ-клетки, Т $\gamma$ δ-клетки), ряд цитокинов (система интерферона, фактор некроза опухоли, хемокины).

### *1.1.1 Нормальная микрофлора*

Нормальная микрофлора влагалища обеспечивает блокирование рецепторов адгезии клеток эпителия и препятствует прикреплению патогенных микроорганизмов к поверхности слизистой оболочки (рисунок 2).



**Рисунок 2 – Функции нормальной микрофлоры**

Сапрофиты конкурируют с патогенными микробами за питательные вещества, стимулируют регенерацию эпителия слизистой оболочки, продукцию жирных кислот с короткой цепью, факторов неспецифической резистентности. Сапрофиты способствуют инактивации ксенобиотиков, индуцируют иммунный ответ, продукцию стимуляторов иммуногенеза, фагоцитарной активности [6, 11]. Известно, что 95–98% микрофлоры влагалища здоровой женщины репродуктивного возраста представлено лактобактериями (*Lactobacillus*), большинство которых являются  $H_2O_2$ -продуцирующими штаммами [12]. В норме микрофлора половых путей представлена также коринебактериями, дифтероидами, анаэробной кокковой флорой, в том числе гемолитическими, негемолитическими спретококками, клебсиеллами, энтеробактериями, представителями рода *Proteus*, кишечной палочкой, а также грибами рода *Candida* [13]. Нормоценоз влагалища характеризуется доминированием лактобактерий, отсутствием грамотрицательной флоры, спор, мицелия, псевдогрибов, наличием единичных лейкоцитов и «чистых» эпителиальных клеток соответственно фазе менструального цикла [14]. Экзогенными факторами, неблаго-

приятно влияющими на микрофлору влагалища, являются химические и термические воздействия при обработке стенок влагалища с контрацептивной целью [11].

Микрофлора играет важную роль в состоянии здоровья человека, как определяющая колонизационную резистентность (КР) макроорганизма [7]. КР – это совокупность механизмов, придающих индивидуальную анатомическую стабильность нормальной микрофлоре и предотвращающих заселение слизистых другими микроорганизмами. КР - интегральный показатель не только функции нормальной микрофлоры, но и врожденных, адаптивных механизмов защиты, таких как эпителий, лизоцим, комплемент, интерферон, макрофаги, нормальные (конституциональные) антитела. Нарушение КР возможно при массовом внедрении потенциально патогенных бактерий. Протективная роль нормальной микрофлоры связана с ее конкуренцией с патогенной микрофлорой за рецепторы, место прикрепления к поверхности слизистых, за одни и те же питательные вещества [7].

Нормальная микрофлора формирует биопленку на поверхности слизистых, предотвращая адгезию других микроорганизмов. Бактерицидные свойства нормальной микрофлоры в отношении патогенных микроорганизмов связаны с продукцией бактериоцинов. Присутствие нормальной микрофлоры приводит к непрерывной стимуляции иммунной системы, что позволяет поддерживать постоянный уровень молекул МНС (главного комплекса гистосовместимости) II класса, имеющих принципиальное значение в процессинге, распознавании, презентации чужеродных антигенов, а также сохранять высокий уровень нормальных антител. Таким образом, микрофлора биоценозов оказывает влияние на иммунокомпетентные клетки, вызывая у них индукцию цитокинов (интерлейкины, фактор некроза опухоли).

Колонизации нижних отделов мочевыделительной системы и половых органов женщины патогенными микроорганизмами препятствуют кислая среда ( $pH=4,0-4,5$ ), а также высокий уровень секреторных иммуноглобулинов, компонентов комплимента, лизоцима, лизина, дефензинов, лактоферрина, интерферонов, макрофагов и других бактерицидных факторов во влагалищном секрете [15, 16]. Локальные факторы защиты в цервикальном канале также препятствуют восходящему инфицированию придатков

матки. Слизистая пробка цервикального канала, обладая значительной вязкостью, обеспечивает механическую преграду для патогенных факторов, разделяющую нижний и верхний отделы полового тракта. При применении барьерных методов контрацепции частота развития воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин снижается на 23% [17]. Гормональные контрацептивы повышают вязкость цервикальной слизи, а также уменьшают продолжительность менструальной кровопотери, сокращая благоприятный период для инвазии микроорганизмов через эндометрий [18]. Бактерицидное действие оказывают антитела к антигенам инфекционных возбудителей, лизоцим. В слизи цервикального канала представлены все классы антител, однако наиболее значимым является секреторный иммуноглобулин А, устойчивый к действию протеолитических ферментов слизи. Иммуноглобулины способны агглютинировать бактериальные клетки, препятствуя прикреплению патогенных агентов к поверхности эпителия. Бактерицидные свойства слизи шейки матки обеспечиваются также макро- и микрофагами, возбудителей [19].

Активные формы кислорода образуются в процессе жизнедеятельности лактобактерий. Так, бактериостатический и бактерицидный эффекты по отношению к *G. vaginalis* возникают при наличии в цервикальной слизи лактобактерий в количестве  $10^2$ – $10^6$  КОЕ/мл [20]. Важную защитную роль играет отторжение функционального слоя эпителия и формирование клеточного лейкоцитарного барьера за счет инфильтрации базального слоя эндометрия микро-, макрофагами и лимфоцитами. Богатое кровоснабжение обеспечивает интенсивное поступление в ткани матки специфических и неспецифических гуморальных факторов защиты [8]. Проникновению патогенных микроорганизмов во внутренние половые органы препятствуют перистальтические сокращения маточных труб, мерцание ресничек на поверхности трубного эпителия в сторону просвета полости матки. Таким образом, в организме здоровой женщины матка, трубы, яичники имеют многоступенчатую защиту, ограничивающую возможности их инфицирования [19].

В последние годы наметилась тенденция изучения показателей нормальной микрофлоры влагалища, ее реакции на воздействие различного «экологического прессинга». Для многих микробов характерно «социальное» поведение. Оно проявляется способ-

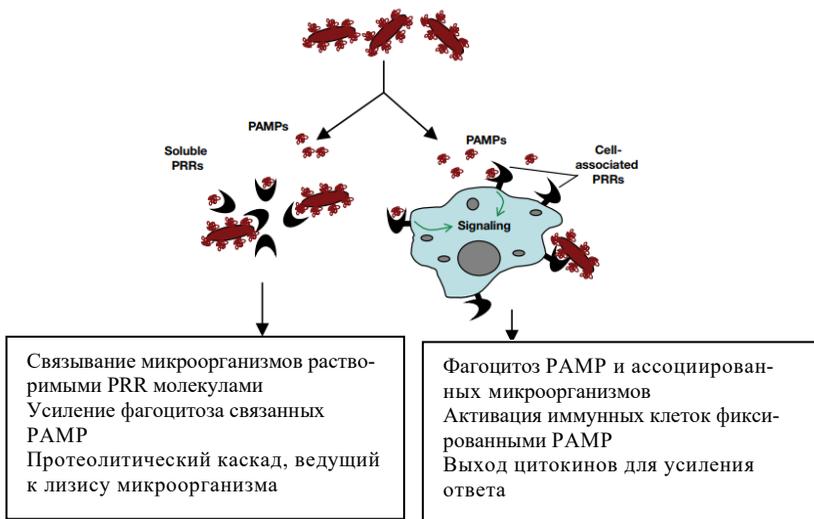
ностью к формированию структурированных сообществ бактерий - биологических пленок. Микробные биопленки представляют собой три элемента: микробные клетки, внеклеточный матрикс и интерфазу – поверхность, разделяющая среды с разными свойствами, на которой локализовано это сообщество. В зависимости от того, какой флорой они сформированы, все биопленки делятся на нормальные биопленки, условно-патогенные биопленки и патологические. В составе биопленок микроорганизмы приобретают качественно иные свойства: устойчивость к факторам резистентности хозяина и способность генерировать субпопуляцию «персисторов». Последние сохраняют жизнеспособность в присутствии антибиотиков и при стрессовых воздействиях, после удаления антибактериальных препаратов возобновляют свой рост. Во внутренних слоях биопленки формируются еще более выраженные уровни резистентности: для того, чтобы уничтожить микробы во внутренних слоях биопленки, требуются дозы антибиотика, в десятки и сотни раз превышающие терапевтические концентрации. Вследствие этого инфекция приобретает хроническое течение и плохо поддается лечению. Еще одним признаком социального поведения бактерий является их способность регулировать свою вирулентность. Доказано, что сигналами для продукции бактериями факторов вирулентности служат либо контакт с клетками эпителия хозяина (экспрессия транспортной системы третьего типа: «молекулярная игла», либо воздействие аутоиндукторов систем «quorum sensing». Чувство кворума – это ощущение сообществом микробов своей самодостаточности для решения вопроса выживания популяции бактерий [21].

Нормальная микрофлора влагалища изменяется в зависимости от фазы менструального цикла. В первой фазе цикла (пролиферативной) восприимчивость к инфекции возрастает ввиду уменьшения количества лактобактерий и увеличения условно-патогенной флоры. Во второй фазе доминируют лактобациллы, особенно в период пика эстрогенов и содержания гликогена – середине секреторной фазы, а количество условно-патогенной флоры снижается. Аэробные бактерии в период менструации и после нее представлены более разнообразно, чем анаэробные, а их число более стабильно в течение менструального цикла.

Длительное применение антибактериальных препаратов существенно влияет на микрофлору влагалища, приводит к ее нарушению, развивается дисбактериоз. Причинами развития дисбиоза женских гениталий могут быть острые и хронические заболевания в репродуктивной фазе, возрастные вагиниты, вульвовагиниты, эндоцервициты, эндоцервикозы, обусловленные отклонениями в гормональной регуляции, а также поступлением в организм антибактериальных средств. Сформировавшийся дисбактериоз поддерживает патологические процессы во влагалище, изменяет нормальную кислую реакцию влагалищной среды, создает реальную угрозу развития гнойно-воспалительных осложнений. Дисбактериоз слизистой влагалища способствует длительному и рецидивирующему течению воспалительных процессов.

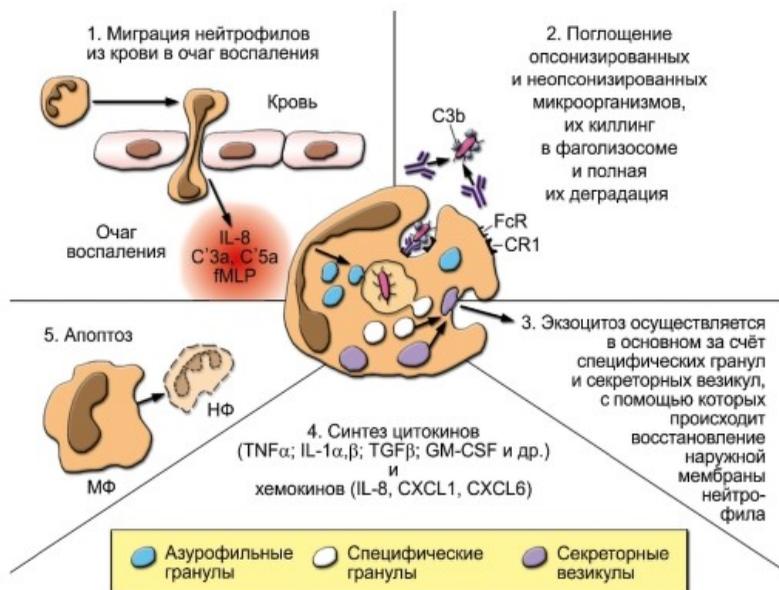
### 1.1.2 Патоген-ассоциированные молекулярные образы

Эффекторы врожденного иммунитета фокусируются на нескольких высококонсервативных доменных структурах, присутствующих в больших группах патогенов, которые носят название патоген-ассоциированных молекулярных образов (PAMP – pathogen associated molecular patterns) (рисунок 3).



**Рисунок 3 – Патоген-ассоциированные молекулярные образы (PAMP) распознаются при помощи образ распознающих рецепторов (PRR)**

К числу наиболее известных PAMP относятся липополисахариды, пептидогликан, липотейхоевые кислоты, маннаны, флагуллин, бактериальная ДНК, вирусные двуспиральные РНК, глюканы. PAMP представляют собой консервативные (неспецифические, невариабельные) структуры микроорганизмов, общие для большинства патогенов и отсутствующие у млекопитающих, поэтому они распознаются иммунной системой как «чужое» при помощи образ распознающих рецепторов (PRR – pattern recognition receptors). Последние включают семейство Toll-подобных сигнальных рецепторов и локализуемые внутриклеточно нуклеотид-связывающие олигомеризующиеся домены (NOD), а также scavenger-рецепторы, маннозные рецепторы (рисунок 4).



**Рисунок 4 – Активация эффекторов врожденного иммунитета и усиление фагоцитоза**

Взаимодействие PAMP с PRR приводит к активации эффекторов врожденного иммунитета и проявляется усилением фагоцитоза за счет дендритных клеток, моноцитарно-

макрофагального звена, гранулоцитов, презентирования антигена, синтеза интерферонов I и II типа, цитолитической активности NK-клеток и продукции антибактериальных пептидов (дефензимов) и хемокинов.

Механизмы врожденного иммунитета - важные факторы, сдерживающие развитие вирусной инфекции. Условно их можно разделить на три активные фазы. В первой фазе вирус подвергается воздействию комплемента, природных антител класса M (IgM) и противомикробных пептидов (ПМП). Вторую фазу защиты осуществляют интерфероны I типа, продуцируемые зараженными эпителиальными и дендритными клетками. В третьей фазе противовирусную активность проявляют клетки-эффекторы (нейтрофилы, макрофаги и естественные киллеры) и секретируемые ими цитокины [22, 23].

Вирусные частицы, инфицирующие слизистые уrogenитального тракта, встречаются с механическими факторами защиты, которые служат барьером на пути проникновения вируса и включают саму слизистую, нормальную бактериальную флору и гликокаликс. Комплемент оказывает нейтрализующее влияние на вирус до его прикрепления к клеткам-мишеням. IgM, секретируемые CD5+ B1-лимфоцитами, весьма эффективно активируют систему комплемента, опсонизируют вирионы или инфицированные клетки, способствуют их лизису или фагоцитозу.

ПМП секретируются эпителиальными клетками покровных тканей и активированными фагоцитами. Они обладают широким спектром прямой противомикробной активности, в частности, подавляют рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, некоторых вирусов. ПМП принимают участие в формировании молекулярной основы врожденного иммунитета, в том числе, путём активации TOLL-подобных рецепторов (TLR-2 и TLR-4). Особый интерес для вирусологов представляет TLR-9, распознающий метилированные участки CpG (cytidine-phosphate-guanosine) вирусной ДНК, которая освобождается при лизисе вирусных частиц [24].

Во вторую фазу врожденного иммунного ответа особое значение имеет продукция интерферонов I типа (ИФН- $\alpha$  и  $\beta$ ), которые начинают активно продуцироваться практически всеми инфицированными клетками уже в первые часы после зараже-

ния и приводят еще неинфицированные клетки в состояние повышенной готовности к запуску механизмов противовирусной защиты. Контакт рецептора с ИФН запускает активацию киназ Jak1 и Tyk-2, которые фосфорилируют молекулы STAT1 и STAT2, приводя к усилению транскрипции около 100 ИФН-стимулированных генов. Интерфероны тормозят репликацию ВПГ, препятствуя экспрессии  $\alpha$ -генов вируса. ВПГ-1 способен угнетать процесс фосфорилирования Jak1, а также STAT2, блокируя каскад событий, вызываемых ИФН-индуцируемым сигналом [25].

### *1.1.3 Дендритные клетки*

Дендритные клетки (ДК) эпителия урогенитального тракта активируются через TLR11 и TLR4, поглощают антигены, мигрируют в региональные лимфатические узлы, где запускают реакции системного адаптивного иммунного ответа. ДК весьма эффективно представляют вирусные пептиды Т-клеткам, вызывая их активацию и секрецию цитокинов, действие которых направлено на дифференцировку CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т- лимфоцитов. После того как ДК покидают инфицированную слизистую, в неё начинают проникать клетки-эффекторы следующей фазы врожденного иммунного ответа - вначале нейтрофилы, затем макрофаги и натуральные киллеры [26]. После мобилизации к месту инфекции нейтрофилы секретируют большое количество противовирусных цитокинов, в частности фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), и ПМП (дефензинов) уничтожают поврежденные эпителиальные клетки. ФНО $\alpha$ , являясь основным продуктом секреции нейтрофилов, угнетают размножение ВПГ, а также уничтожают вирус путём лизиса инфицированных клеток [27].

### *1.1.4 Макрофаги*

Макрофаги поглощают вирионы и пораженные вирусом клетки, являются важным источником хемокинов воспаления и цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-18, ИФН $\alpha$  и ИФН $\beta$ ). Макрофаги служат также основным источником окиси азота (NO) - соединения, обладающего значительной противовирусной активностью. Тормозящий репродукцию вируса - эффект NO был установлен на этапе экспрессии поздних генов, репликации ДНК и сборки вирионов [26].

Макрофаги эндометрия здоровых фертильных женщин продуцируют в наибольшей степени ИЛ-8, уровень выработки ими ИЛ-1 $\beta$  находится на 2-м месте. Локальный уровень синтеза ИНФа и ФНО $\alpha$ , так же как и системный, минимальный. Так как основными индукторами продукции ИНФа являются вирусы, а ФНО $\alpha$  – грамотрицательные бактерии, то вполне логично, что в спектре цитокинов, продуцируемых фагоцитами здоровых женщин, уровень синтеза ИНФа и ФНО $\alpha$  имеет минимальные значения. ИЛ-8 является хемотаксическим фактором для нейтрофилов, вызывает направленную миграцию лейкоцитов в очаг воспаления, активирует базофилы к продукции гистамина и лейкотриенов, активирует дегрануляцию, респираторный взрыв фагоцитов, активирует адгезивность моноцитов к эндотелию, усиливает ангиогенез. Высокий уровень ИЛ-8 макрофагами эндометрия здоровых женщин свидетельствует о том, что на локальном уровне более значимы процессы хемотаксиса. В эндометрии, как в барьерной ткани, формируется условия, необходимые для быстрого рекрутирования активированных клеток в очаг воспаления для успешной элиминации антигенов различной природы [28].

У здоровых фертильных женщин продукция цитокинов на системном уровне осуществляется преимущественно за счет ИЛ-1 $\beta$  и в несколько меньшем объеме ИЛ-8, спонтанный уровень выработки моноцитами ИНФа и ФНО $\alpha$  – минимальный. ИЛ-1 $\beta$  выполняет важную роль в регуляции и реализации иммунных процессов, что и обуславливает высокий уровень его продукции моноцитами периферической крови [29].

#### *1.1.5 Натуральные киллеры*

Натуральные киллеры (НК) являются важными компонентами врожденного иммунитета [30]. НК представляют собой высокоспециализированную популяцию больших гранулярных лимфоцитов, обладающих цитотоксической активностью и способностью к продукции различных цитокинов и хемокинов в ответ на стимуляцию со стороны клеток-мишеней или провоспалительных цитокинов. К середине секреторной фазы их количество увеличивается до 60% и в ранние сроки беременности - до 75%. Натуральные киллеры эндометрия представлены на 70-80% CD56brightCD16- клетками и 20-30% CD56dimCD16+ клетками (с высокой экспрессией высоко аффинного Fc $\gamma$

рецептора) [31]. Активация НК определяется балансом сигналов, поступающих в клетку через систему мембранных рецепторов, в которую входят как активирующие, так и ингибирующие НК рецепторы. Причем в большинстве случаев активность рецепторов, проводящих ингибирующие сигналы, преобладает над действием активирующих НК рецепторов [30].

Более того, отмечается выраженная многофакторная взаимозависимость врожденного и адаптивного звеньев иммунитета. Так, презентирование антигена, фагоцитированного клетками моноцитарно-макрофагального звена и продукция таких цитокинов, как ФНО и ИНФ 1 типа и ряда других приводят к активации и пролиферации антигенспецифических клеток-эффекторов адаптивного иммунитета, а также формированию Т- и В-клеток памяти. В то же время, продуцируемые Т-хелперами цитокиновые «коктейли» оказывают амплифицирующее и модулирующее воздействие на эффекторы врожденно-го иммунитета.

## **1.2 Главный комплекс гистосовместимости**

Главный комплекс гистосовместимости МНС (Major Histocompatibility Complex) у человека получил название HLA (Human Leukocyte Antigens). HLA – система – это система генов и кодируемых ими антигенов, участвующая в ряде важнейших биологических процессов:

- распознавание «своего» и «чужого» (обеспечение противоопухолевого, противоифекционного, трансплантационного иммунитета и др.)
- обеспечение межклеточных взаимодействий
- генетический контроль иммунного ответа
- генетический контроль активности системы комплемента и др.
- обеспечение предрасположенности к различным заболеваниям (онкологическим, аутоиммунным, аллергическим и др.).

HLA-система характеризуется выраженным полиморфизмом и обеспечивает взаимодействие всех клеток организма. Отдельно взятая молекула антигена гистосовместимости способна связывать ограниченный круг пептидов. Чтобы чужеродные белки не могли избежать иммунологического распознавания, необходимо

присутствие на клеточной мембране целого набора антигенов гистосовместимости, включающих в гетерозиготном состоянии по 2 антигена каждого из локусов системы HLA. Полиморфизм классических генов MHC (I и II классов) означает наличие в популяции множества аллелей – вариантов одноименного гена у разных особей. Конкретные варианты MHC закрепляются в эволюции естественным отбором, и каждая отдельная особь оказывается приспособленной к регионарным видам и штаммам микроорганизмов, на защиту от которых шел отбор MHC у предков. Нарушение или полное отсутствие какой-либо из функций HLA лежит в основе аутоиммунных, онкологических, иммунодефицитных заболеваний. Гомозиготы по антигенам HLA являются чрезвычайно невыгодным для организма с физиологической точки зрения.

В пределах системы HLA могут разместиться около 105-106 генов. Гены, кодирующие антигены системы HLA, принято делить на 4 класса:

**1 класс** - Первоначально были подразделены на 3 локуса, называемые A, B и C. Однако, кроме генов этих локусов в класс I системы HLA включаются еще 18 генов, 11 из которых являются псевдогенами, а 7-ассоциированы с продуктами транскрипции. Здесь существуют также гены E, F, G, H, функция которых не установлена).

**2 класс** – структуры D области, в которых выделяют сублокусы: HLA- DR, DQ, DP. В этой же зоне находятся и другие гены: например, DN, DO, продукты которых пока не известны.

**3 класс** - в состав входят гены, C2, C4, пропердиновый фактор BF, кодирующие компоненты комплемента и участвующие в активации C3. В этой же области находятся гены, кодирующие синтез цитокинов ФНО, ферментов, участвующих в образовании гормонов.

**4 класс** - условно отнесены гены, связь которых с системой HLA еще нуждается в доказательствах.

В состав системы HLA включены два новых неклассических HLA гена, кодирующих молекулы CD1a, CD1b и CD1c, участвующих в регуляции врожденного иммунитета.

Экстремальный аллельный полиморфизм системы HLA является мощным механизмом варибельности и естественного от-

бора человека как вида и позволяет ему противостоять постоянно эволюционирующему множеству патогенов.

Одной из важнейших физиологических функций системы HLA является участие этой системы в процессе репродукции человека. Репродуктивный этап жизнедеятельности человека является одним из наиболее ярких примеров того, как главный комплекс гистосовместимости обеспечивает генетическое разнообразие. В случае совместимости пар по HLA-гаплотипам возникают выкидыши, гестозы. Современная иммунология научилась решать эти проблемы в репродукции. Однако ценой этого решения является появление HLA-гомозиготного потомства. Полная HLA совместимость супругов теоретически ничтожна, из-за крайне высокой степени полиморфизма системы HLA, средняя вероятность полной HLA идентичности двух произвольно взятых людей приближается к 1:1000000. Однако, на практике вероятность негативного проявления HLA совместимости значительно выше.

Имеет значение не только полная совместимость, но и частичная, наибольшую отрицательную роль может играть совместимость по специфичностям гена HLA-DRB1. В большинстве популяций мира совместимость по специфичностям гена HLA-DRB1 встречается приблизительно на 2 порядка чаще, чем полная HLA совместимость. Даже в больших популяционных группах имеется значительное количество людей, в генотипе которых отдельные или группы генов HLA находятся в гомозиготном состоянии. Для человека, в отличие от животных, вероятность идентичности супругов хотя бы по части HLA антигенов достаточно высока. Следствием этого является HLA-совместимость супругов в репродукции. При физиологически протекающей беременности более чем в половине случаев муж и жена были полностью HLA-несовместимыми. Процент HLA совместимых пар по антигенам класса I - около 2% при полном отсутствии совместимых пар по антигенам HLA класса II. В группе женщин с привычной невынашиванием только в 26% муж и жена оказались несовместимыми по антигенам HLA класса I, в то время как в более чем половине случаев они оказались совместимы по антигенам HLA класса II.

Антигены ГКГС 2 класса определяют в основном на поверхности АПК (дендритных, макрофагах, В-лимфоцитах), а также на

активированных Т-лимфоцитах, эндотелиальных, эпителиальных, тучных и др. клетках. Экспрессия молекул МНС 2 класса усиливается под действием гамма-ИФН и подавляется ПГЕ<sub>2</sub>. Основная биологическая функция генов и антигенов 2-го класса заключается в обеспечении взаимодействия иммунокомпетентных клеток: кооперация Т- и В-лимфоцитов и макрофагов в процессе синтеза антител; супрессия гуморального и клеточного иммунитета; с антигенами 2 класса связаны гены, контролирующие силу иммунного ответа Ir (Immune response). Именно сцеплением генов Ir и HLA обусловлены многие случаи ассоциации разнообразных проявлений иммунопатологии с определенными HLA – гаплотипами (набор сцепленных генов 1 гаплоидной хромосомы).

### 1.3 Межклеточные контакты

Межклеточные контакты представляют собой белковые молекулы с различными характеристиками и выполняющие каждый свою функцию. Межклеточные контакты обеспечивают прикрепление клеток друг к другу и элементам внеклеточного матрикса, образование клеточных пластов (тканей) и служат для межклеточной коммуникации, контроля селективного межклеточного транспорта молекул и влияния на сигнальные пути [32].

Типы межклеточных контактов могут быть разнообразными (рисунок 5).

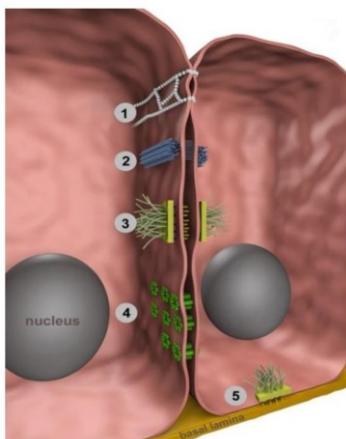


Рисунок 5 – Типы межклеточных контактов.

Плотные соединения (1) расположены в самой верхней части латеральной клеточной мембраны двух соседних клеток, таким образом регулируя межклеточный транспорт между клетками (функция ворот) и поддерживая апикобазальную полярность (функция ограждения). Адгезивные соединения (2) и десмосомы (3) соединяют соседние клетки друг с другом, адгезивные соединения связаны с внутриклеточными пучками актина, десмосомные бляшки связаны с промежуточными филаментами. Щелевые соединения (4) представляют собой межклеточные мембранные каналы, непосредственно соединяющие цитоплазму соседних клеток, что позволяет обмениваться ионами, вторичными мессенджерами и небольшими метаболитами. Канал щелевого соединения состоит из двух полуканалов (коннексонов), каждый из которых состоит из шести белковых субъединиц (коннексинов). Гемидесмосомы (5) соединяют внутриклеточные филаменты с базальной пластинкой.

Эндометрий в отличие от большинства других тканей претерпевает обширные физиологические изменения и характеризуется пластичностью из-за своей решающей роли в наступлении и поддержании беременности. Гормонально регулируемые циклические изменения в ткани позволяют трансформировать его в рецептивное состояние, что позволяет эмбрионам имплантироваться, прикрепляться и проникать через эпителий в нижележащий компартмент стромальных клеток. Во время беременности строма эндометрия регулирует инвазию трофобластов и обеспечивает кровоснабжение для питания развивающегося организма. Во время этих процессов люминальные эпителиальные клетки эндометрия претерпевают переход от эпителия к мезенхиме, и, наоборот, в стромальных клетках эндометрия может наблюдаться мезенхимально-эпителиальный переход.

Эти сложные изменения сопровождаются изменениями в межклеточных контактах, нарушение которых может привести к неудаче имплантации и нарушению развития эмбриона, и может вовлечь в патогенез заболеваний эндометрия.

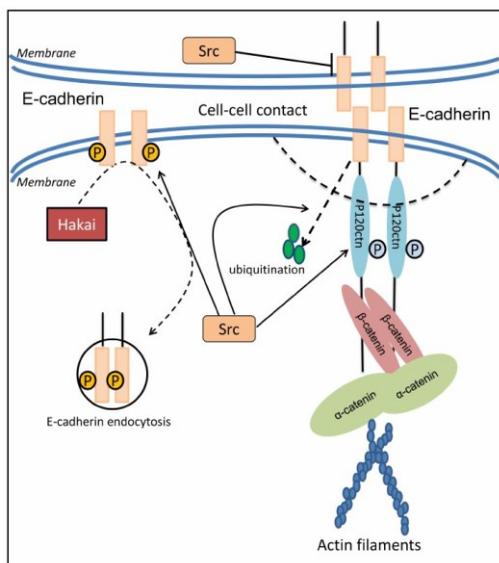
Основные молекулы межклеточного взаимодействия в клетках эндометрия:

- *клаудины* (claudin-1,-2,-3,-4,-5,-7) синтезируется в эпителиальных клетках эндометрия. Белки клаудин-3, -4 и -7 синтезируют-

ется больше в средней секреторной фазе, чем в пролиферативной/ранней секреторной фазой. Синтез белка клаудин-1 и клаудин-5 увеличивается в секреторной фазе.

- *трансмембранные белки плотных контактов JAM-1* (Junction adhesion molecule) синтезируется на базолатеральных мембранах просветного и железистого эпителия и ZO-1 (Zonula occludens) синтезируется в апикальной части базолатеральной клеточной мембраны эпителия эндометрия, а также в эндотелиальных клетках. Для обоих белков, JAM-1 и ZO-1, никаких изменений в локализации или уровне экспрессии не наблюдается на протяжении всех фаз менструального цикла.

- *Е-кадгерин и бета-катенин* (рисунок 6) локализируются суб-апикально на латеральной мембране железистых эпителиальных клеток во время поздней пролиферативной и ранней лютеиновой фазы, синтез белков уменьшается во время средней и поздней лютеиновой фазы [33].

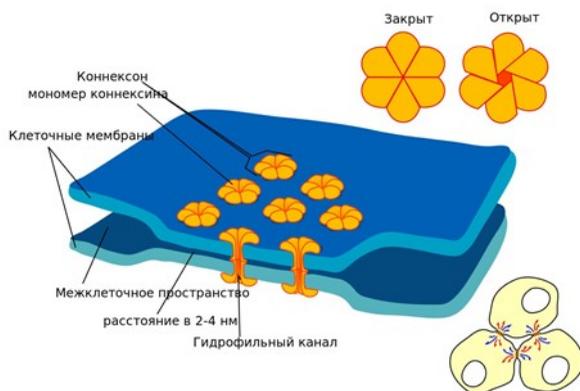


**Рисунок 6 – Е-кадгерин**

Е-кадгерин является одной из важных молекул эпителиальной адгезии, которая играет решающую роль в поддержании полярности эпителиальных клеток из-за нарушения плотных соединений и

реорганизации систем цитоскелета. Снижение межклеточного контакта на основе E-кадгерина, вызванное c-Src, происходит не только за счет запрещенной экспрессии E-кадгерина, но также за счет усиленного эндоцитоза и дальнейшей интернализации E-кадгерина за счет регуляции лигазы E3, Nck1. Более того, активированный c-Src приводит к фосфорилированию тирозином E-кадгерина и p120-катенина. Этот эффект приводит к ослаблению связи между E-кадгерином и p120-катенином, что способствует нестабильности E-кадгерина на стыке спаек.

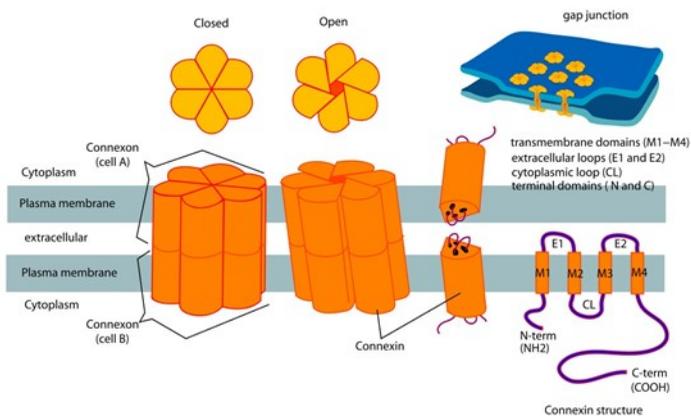
- Белки щелевых контактов коннексины Cx26 и Cx32 (рисунок 7).



**Рисунок 7 – Коннексины Cx26 и Cx32**

Увеличение синтеза белка Cx26 наблюдается в эпителиальных клетках эндометрия во время пролиферативной фазы, однако перестает синтезироваться в секреторную фазу, включая рецептивное окно. Для белка Cx32 характерна слабая экспрессия в базальной части эпителиальных клеток, которая снижается во время рецептивной фазы [34].

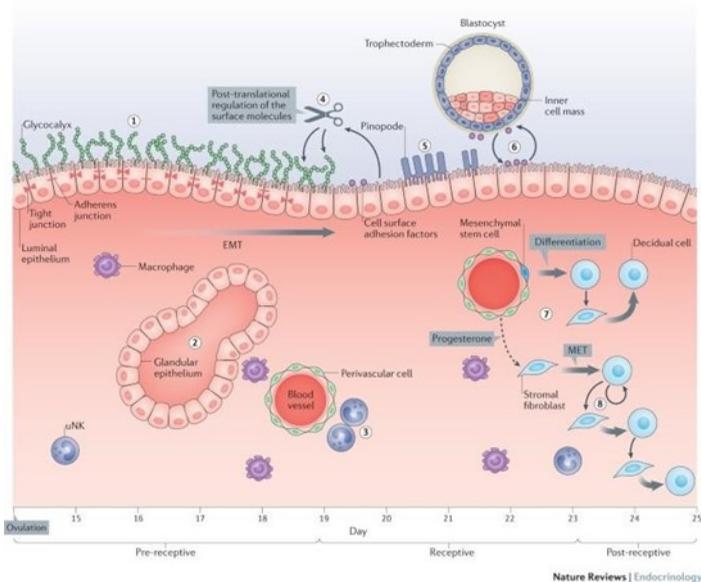
- Белок щелевого контакта коннексин cx43 (рисунок 7).



**Рисунок 7 – Коннексин Cx43**

В отличие от плотных и адгезионных соединений, щелевые соединения также присутствуют в стромальных клетках эндометрия. Эти каналы состоят из белка Cx43. Подобно другим коннекسينам эндометрия, уровень белка Cx43 в стромальных клетках эндометрия также снижается во время секреторной фазы [35].

В течение всего менструального цикла эпителиальные и стромальные клетки эндометрия претерпевают значительные изменения для подготовки эмбриона к имплантации. Люминальный эпителий трансформируется из невосприимчивого в рецептивное состояние, что делает возможной адгезию и инвазию трофобласта, в то время как железистый эпителий производит компоненты маточной жидкости для выживания раннего эмбриона. Стромальные клетки дифференцируются в предецидуальные клетки, готовясь к инвазии трофобласта. Межклеточные контакты участвуют в своевременной регуляции преобразования просветного эпителия в рецептивное состояние, при котором этот физический барьер преодолевается бластоцистой (рисунок 8).



**Рисунок 8 – Пре- и пострецептивный эндометрий**

Пре-рецептивный просветный эпителий (1) не активен для адгезии из-за наличия антиадгезивных факторов, включая гликокаликс, поляризованный эпителий и боковые соединения, которые плотно скрепляют клетки друг с другом. Во время пре-рецептивной фазы железистый эпителий становится высокосекреторным (2), клетки естественных киллеров матки (uNK) размножаются и макрофаги проникают в эндометрий (3). Чтобы стать восприимчивым, просветный эпителий претерпевает значительные изменения (4): эпителиальные ферменты и ферменты, секретлируемые бластоцистами, посттрансляционно модифицируют гликокаликс; эпителий претерпевает эпителиально-мезенхимальный переход (EMT), становясь менее поляризованным с меньшим количеством боковых соединений, и изменяется репертуар факторов адгезии на просветной эпителиальной поверхности. Пиноподы (5) появляются на поверхности просветного эпителия в начале рецептивности, но их роль в адгезии бластоцисты к эпителию в настоящее время неясна. Связь между бластоцистами и просветным эпителием матки дополнительно увеличивает восприимчивость (6). Децидуализация (7) инициируется прогестероном в стромальных

клетках, прилегающих к кровеносным сосудам, и в сосудистых мезенхимальных стволовых клетках. Эти клетки претерпевают мезенхимно-эпителиальный переход (МЕТ), чтобы стать округлыми секреторными клетками, экспрессирующими децидуальные маркеры пролактин и инсулиноподобный белок, связывающий фактор роста 1. Децидуальные клетки секретируют факторы (такие как гормоны, цитокины, хемокины, липиды и некодирующие РНК) которые действуют синергетически или аддитивно, создавая волну децидуализации (8) по всему эндометрию [36].

#### *Межклеточные соединения при имплантации*

Контроль проницаемости эпителия матки при создании оптимальной среды для развивающегося эмбриона и регулирование восприимчивости эндометрия, чтобы позволить или предотвратить имплантацию эмбриона, могут быть ключевыми функциями соединительных компонентов в матке.

Несмотря на то, что морфология плотных контактов указывает на их функцию в эпителии, содержание клаудина является параметром, который в конечном итоге определяет характеристики проницаемости. Таким образом, комбинация и соотношение различных клаудинов может быть ключевым фактором, контролирующим имплантацию эмбриона.

Однако полная децидуализация стромальных клеток происходит только во время беременности. Здесь децидуальная оболочка играет важную роль в имплантации и развитии эмбриона. Таким образом, количество и распределение соединительных белков может значительно измениться в процессе имплантации.

Во время лютеиновой фазы менструального цикла эндометрий трансформируется в восприимчивое состояние, что обеспечивает адгезию и инвазию трофобласта. Однако для успешной имплантации экспрессия генов в эндометрии дополнительно регулируется имплантирующейся бластоцистой посредством точно синхронизированных взаимодействий эмбриона и эндометрия. В этот процесс вовлечены оба отдела эндометрия: с одной стороны, эпителий должен обеспечивать адгезию эмбриона и инвазию через эпителий, с другой стороны, стромальные клетки должны трансформироваться в клетки децидуальной оболочки, которые регулируют инвазию трофобласта и обеспечивают кровоснабжение плаценты, необходимое для питания эмбриона [37].

Распределение и функция различных соединительных белков еще полностью не изучены, хотя их важность в процессе имплантации и беременности огромна. Было описано, что десмосомы, гемидесмосомы и адгезивные соединения уменьшаются в доимплантационном периоде, предположительно способствуя инвазии трофобласта через эпителиальный барьер. Однако, когда E-кадгерин был условно нокаутирован в матке, у этих мышей обнаружилась невозможность имплантации, предположительно из-за нарушения адгезии бластоцисты к просветному эпителию [38].

Решающей функцией соединительных компонентов в эпителиальной оболочке матки может быть контроль проницаемости эпителия и среды эндометрия, а также регулирование адгезии трофобласта и проникновения через эпителиальную ткань. Плотные межклеточные соединения - единственные соединительные комплексы, которые сохраняются в течение периода имплантации. Напротив, выработка компонентов адгезии и щелевых контактов уменьшается перед имплантацией для инвазии трофобласта через эпителиальный барьер, исключение - E-кадгерин, он необходим для успешного прикрепления бластоцисты.

При подготовке к имплантации эмбриона не только эпителий матки должен дифференцироваться в рецептивное состояние, чтобы обеспечить адгезию и инвазию трофобласта, но и стромальные клетки эндометрия также проходят сложный процесс дифференцировки. Они трансформируются в децидуальные клетки, которые регулируют инвазию трофобласта, могут участвовать в отборе компетентных эмбрионов и, более того, поддерживают ангиогенез для создания обширной сосудистой сети, которая необходима для кровоснабжения плаценты и успешного эмбрионального развития. Процесс децидуализации необходим для успешной имплантации и развития эмбриона. Во время этого процесса стромальные клетки эндометрия претерпевают фенотипические изменения, напоминающие мезенхимально-эпителиальный переход, ведущий к эпителиальным клеткам, сопровождающийся изменениями в экспрессии и локализации многочисленных межклеточных контактных белков.

### 1.3 Везикулярные комплексы

Необходимым условием жизнедеятельности организма являются межклеточные взаимосвязи, позволяющие скоординировать биохимические процессы, протекающие в его клетках. Передача сигналов может осуществляться как путем секреции во внеклеточное пространство, так и через щелевые контакты напрямую между клетками, и через крошечные внеклеточные пузырьки - везикулы, выделяемые клетками в окружающую среду и разносимые кровотоком по всему организму [39].

Важным элементом межклеточных коммуникаций являются процессы, происходящие внутри самих клеток, так как они опосредуют биосинтез медиаторных молекул, проведение сигналов в клетке. Установлено, что клетки способны передавать друг другу рецепторные молекулы вместе с фрагментами плазматической мембраны, например при образовании иммунного синапса [40].

Внеклеточные везикулы - гетерогенная популяция мембранных везикул. Они образуются клетками различного происхождения во время их жизнедеятельности, активации и при апоптозе [41, 42]. В зависимости от размера и способа образования в настоящее время везикулы подразделяют на экзосомы (30–120 нм), микровезикулы (МВ), или эктосомы (100–1000 нм), апоптотические тельца (800–5000 нм), однако некоторые исследователи выделяют дополнительные подтипы, такие как нановезикулы, гигантские онкосомы, гигантские мембранные везикулы, уни- и мультиламеллярные везикулы. Классификация и деление везикул по размерам обсуждается, так как нет строгих критериев и методов их получения и детекции [41, 42].

Внеклеточные везикулы содержат различные поверхностные и внутриклеточные молекулы — белки, липиды, гликолипиды, гликопротеины и нуклеиновые кислоты, включая ДНК, мРНК и некодирующие РНК [43-45].

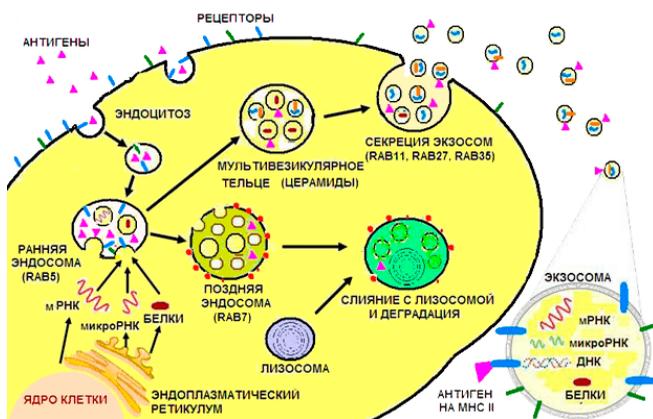
Долгое время считалось, что микровезикулы - это клеточный дебрис («остатки» полуразрушенных клеток), однако в последующем было показано, что слушивание (шеддинг) везикул с мембраны представляют собой источник большого количества различных иммунологически активных молекул, которые, воздействуя на клетки, могут регулировать различные процессы, происходящие в организме, в том числе воспаление, коагуляцию, презентацию ан-

тигенов, апоптоз, то есть могут участвовать в патогенезе различных заболеваний и воспалительных процессов [45-48].

Микровезикулы могут передавать клеткам-реципиентам хемокиновые и цитокиновые рецепторы, арахидоновую кислоту. Они могут проявлять противовоспалительные свойства, индуцируя апоптоз иммунных клеток и/или способствуя продукции ими противовоспалительных медиаторов [46]. Микровезикулы демонстрируют и провоспалительную активность посредством увеличения восприимчивости клеток к новым стимулам, межклеточного переноса рецепторов и встраивания их в плазматическую мембрану клеток-реципиентов [43], путем активизации системы комплемента, а также способствуют привлечению и миграции лейкоцитов в патологический очаг.

Образование везикул, или везикуляция, - постоянный и естественный процесс. При исследовании везикуляции на клеточных линиях обнаружено, что стимуляция иммунных клеток  $TNF\alpha$  и  $IL1\beta$ , активированным фактором комплемента  $C5a$ , конканавалином, а также воздействие факторов, индуцирующих апоптоз клеток (форболовый эфир, иономицин, УФ-облучение), увеличивают уровень внеклеточных везикул в среде.

Образование каждого из типов везикул происходит за счет различных механизмов (рисунок 9).



**Рисунок 9 – Образование везикул.**

Процесс образования экзосом является наиболее изученным - он опосредуется клеточным комплексом ESCRT (endosomal sorting complex required for transport). Формирование экзосом начинается с того, что в цитозоле клетки в мультивезикулярном теле образуются интралюминарные везикулы, затем происходит слияние мультивезикулярного тела с плазматической мембраной клетки и выход экзосом во внеклеточное пространство. Основными маркерами экзосом являются мембранные белки (cluster of differentiation) CD81, CD63, а также ген 101 (Tsg101) [41, 42].

Апоптотические тельца образуются на последних этапах апоптоза, опосредованных действием каспаз. При апоптозе происходит конденсация ядерного хроматина, сжатие ядра и образование ядерных фрагментов, которые перемещаются к плазматической мембране и высвобождаются в виде апоптотических телец. Отличительной чертой апоптотических телец от других типов внеклеточных везикул является проницаемая мембрана [42].

Формирование микровезикул происходит за счет механизма отпочковывания (blebbing) плазматической мембраны клетки. Данный механизм недостаточно изучен: например, неизвестно, каким образом содержимое попадает в везикулу, однако обнаружено, что процесс образования сопровождается сжатием и потерей асимметрии плазматической мембраны клетки, реорганизацией цитоскелета. Это, в свою очередь, приводит к перераспределению фосфолипидов и экспонированию фосфатидилсерина на внешней части мембраны, который связывается с аннексином V. Помимо фосфатидилсерина микровезикулы несут на поверхность мембраны различные рецепторы, адгезионные молекулы клетки-источника [49].

В зависимости от участка мембраны, на котором происходит отпочковывание, микровезикулы могут иметь различные свойства и состав [41, 42, 46]. У клеток в состоянии покоя фосфатидилсерин локализован на внутреннем листке мембраны и регулируется АТФ-зависимой аминоксанофосфолипид-транслоказой. При нарушении асимметрии мембраны клетки данный фермент теряет свои функции [46]. Процесс образования микровезикул зависит от уровня кальция в клетке - при увеличении концентрации внутриклеточного кальция происходит активация  $Ca^{2+}$ -зависимой цистеиновой протеазы кальпаина, которая разрушает белки цитоскелета, в частно-

сти белок талин. Вследствие этого плазматическая мембрана отделяется от цитоскелета, и в данных местах происходит отпочковывание мембраны и образование микровезикулы [46, 50, 51].

Важным участником процесса ремоделирования цитоскелета клетки является Rho-ассоциированная киназа 1 (ROCK-1), которая фосфорилирует легкие цепи миозина, вследствие чего увеличивается его сократимость [46]. Везикуляция чаще всего происходит в той области плазматической мембраны, где содержатся липидные рафты, и обусловлена липидным составом мембраны; факторами, модулирующими деформацию и изгиб; текучестью мембраны и изменением структуры цитоскелета. Обогащение холестерина плазматической мембраны приводит к увеличению образования микровезикул. Церамиды также важны для изгиба мембраны, что способствует образованию МВ. Некоторые исследователи предполагают, что образование микровезикул является конечной точкой активационного каскада и/или началом апоптоза клетки [51].

Описывают несколько видов взаимодействий МВ с клетками-мишенями, при помощи которых везикулы могут доставлять свое содержимое: кавеолин и клатрининдуцированный эндоцитоз, макропиноцитоз и эндоцитоз липидных рафтов, фагоцитоз [42]. После попадания везикул в клетку они могут поглощаться эндосомально-лизосомальной системой клетки и затем соединяться с мембранами органелл и цитозольным содержимым клетки-реципиента. Они также способны сливаться с самой мембраной клетки-реципиента, чтобы высвободить свое содержимое непосредственно или при помощи рецепторов во внутреннюю среду клетки. Везикулы в результате лиганд-рецепторного взаимодействия с клеткой-мишенью могут высвободить свое содержимое во внеклеточное пространство и тем самым активировать как клетку-мишень, так и соседние клетки.

Везикулы могут взаимодействовать с клеткой-мишенью без слияния с ней, а при помощи лиганд-рецепторных механизмов, запуская сигнальные каскады в клетке [41]. Везикулы функционируют как системы, передающие информацию клеткам в их тканевой среде при помощи различных механизмов [43]. Имеются данные о том, что низкий рН в среде способствует слиянию мембран микровезикул с клетками-реципиентами, а гепарансульфаты-протеогликаны, наоборот, снижают слияние микровезикул с мем-

браной клетки-мишени. Таким образом, механизмы взаимодействия везикул и клеток-реципиентов зависят от различных факторов - состава сред, микроокружения, от типа клеток-источников, рецепторнолигандного репертуара на них, а также от содержимого самих везикул [41].

Изучение свойств везикул осложнено тем, что их размер ниже разрешающей способности приборов. Основными методами для изучения размеров, морфологии и фенотипа везикул являются трансмиссионная электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, метод динамического светорассеяния, проточная цитофлюориметрия [52, 53].

#### *1.4.1 Микровезикулы лейкоцитов*

Микровезикулы лейкоцитарного происхождения остаются наименее изученной популяцией МВ в связи с тем, что они составляют минорную часть микровезикул в кровотоке при физиологических условиях. Однако при патологиях их уровень в плазме крови резко возрастает, что могут служить маркером развития различных заболеваний [41]. Установлено, что нейтрофилы, дендритные клетки, макрофаги, тучные клетки, Т- и В-лимфоциты способны образовывать микровезикулы [54]. Эффект МВ на клетку-мишень зависит от их молекулярного состава - как поверхностного, так и внутреннего. Они могут содержать мембранные, цитоплазматические и ядерные компоненты исходной клетки и обычно сохраняют поверхностные маркеры родительских клеток [51].

Иммунологический эффект микровезикул лейкоцитарного происхождения включает в себя широкий спектр механизмов активации и подавления иммунных реакций. Микровезикулы могут оказывать биологические эффекты на клетки-источники (аутокринное воздействие) и клеткереципиенты либо воздействуя на клеточные рецепторы/лиганды, либо путем переноса содержимого белков, липидов, мРНК или микроРНК, антигенов, запуская сигнальные каскады внутри клеток. Таким образом, микровезикулы действуют как своеобразные «контейнеры», передающие информацию от родительских клеток клеткам-мишеням в зависимости от микроокружения, стимула и клетки источника [51]. В связи с этим идентификация специфических молекулярных маркеров в составе или на поверхности микровезикул, полученных из лейкоцитов,

может быть полезна для исследований по использованию МВ в качестве терапевтических агентов [54].

#### *1.4.2 Микровезикулы нейтрофилов*

Клетки врожденного иммунитета осуществляют неспецифическую защиту организма от различных патогенов. В ходе иммунного ответа активированные лейкоциты образуют микровезикулы. Нейтрофилы - самая многочисленная популяция лейкоцитов (40–75%), циркулирующих в кровотоке у человека, однако количество микровезикул нейтрофилов незначительно, и их уровень возрастает при воспалительных процессах, протекающих в организме, а также при сильных физических нагрузках. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов участвуют в регуляции активности клеток, участвующих в воспалении и других иммунных реакциях [51-56]. Подобно другим популяциям микровезикул, нейтрофильные образуются как из апоптотических, так и активированных нейтрофилов, их состав зависит от стимулов, используемых при активации клеток-источников. J. Dalli и соавт. разделяют соединения-стимулы для образования микровезикул нейтрофилов на три категории: бактериальные продукты [57], «факторы организма-хозяина», цитокины и экзогенные соединения. Микровезикулы нейтрофилов, образованные нейтрофилами в результате активации бактериями, способны уменьшать бактериальный рост [50]. Побочные продукты жизнедеятельности бактерий, такие как эндотоксин и fMLP (N-формилметионин), являются мощными индукторами образования микровезикул нейтрофилов. К медиаторам организма-хозяина можно отнести различные факторы гуморальной защиты иммунитета - TNF $\alpha$  [51], белки комплемента [58], IL8 [59] и фактор активации тромбоцитов; экзогенные соединения - активатор протеинкиназы C, PMA, иономицин и ингибитор синтазы оксида азота, L-NAME [51]. TNF $\alpha$  является мощным активатором образования микровезикул нейтрофилов, механизм опосредован NF-kB и/или каспазы 8-зависимыми путями. Каспаза 8 активирует каспазу 3, которая в свою очередь активирует кальпаин посредством расщепления кальпаистатина - ингибитора кальпаина, вследствие чего происходит повышение концентрации кальция и образование МВ [50]. В целом, большинство этих факторов используются и в условиях *in vitro* для изучения свойств микровезикул. Помимо классификации стимулов, активирующих нейтрофилы, раз-

работана классификация микровезикул нейтрофилов по их эффекту в отношении бактерий [60]. С. Timar и др. показали, что они обладают антибактериальным эффектом, но этот эффект зависит от стимула активации [50]. Микровезикулы нейтрофилов из периферической крови человека разделяют на 3 категории: s-MB (спонтанное образование), p-MB (стимуляция форболовым эфиром) и b-MB (индукция бактериями). Для субпопуляций микровезикул нейтрофилов характерна различная степень антибактериальных свойств: s-MB не обладают заметными антибактериальными свойствами, p-MB обладают умеренными антибактериальными свойствами, а b-MB наиболее эффективны при предупреждении бактериального роста. Протеомный анализ субпопуляций микровезикул нейтрофилов показал, что антибактериальными белками (миелопероксидаза, лактоферрин) обогащены b-MB, что может обуславливать их дифференциальное воздействие на рост бактерий. Поверхностные маркеры b-MB включали интегрины CD11b и CD18. В связи с этим предложен механизм проявления антибактериальных свойств b-MB, в котором b-MB присоединяются к бактериям через интегрины, что приводит к образованию агрегатов b-MB и бактерий, однако агрегирование бактерии b-MB не имело бактерицидного эффекта, но вместо этого предотвращало их рост, т.е. было бактериостатическим. Этот антибактериальный эффект снижался при обработке b-MB водой или сапонином и зависел от  $Ca^{2+}$ , энергии (глюкозы).

Влияние микровезикул нейтрофилов на бактерии отличается от эффектов нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular trap, NET), что подтверждается несколькими фактами. Образование NET является более длительным процессом (2–4 ч), тогда как максимальное образование b-MB происходит в течение 20 мин. Производство NET зависит от активных форм кислорода, тогда как образование и активность b-MB не зависят от окислительного взрыва. NET не требуют энергии или других клеточных структур, тогда как b-MB зависят от ремоделирования цитоскелета и уровня глюкозы. Таким образом, авторами предполагается важная иммунологическая роль микровезикул нейтрофилов в улавливании бактерий. Важным аспектом является то, что микровезикулы свободно двигаются в системной циркуляции, обладают способностью прикрепляться к бактериям в крови или тканях [50].

#### *1.4.3 Взаимодействие микровезикул нейтрофилов с клетками*

Микровезикулы нейтрофилов экспрессируют фосфатидилсерин на наружном листке мембраны, а также L-селектин, который необходим для их адгезии [44]. Показано, что данные микровезикулы активируют комплемент по классическому пути, фиксируют C3-, C4-фрагменты [54], а опсонизированные МВ связываются с эритроцитами через рецептор комплемента 1, что может играть роль в их секвестрации. Микровезикулы нейтрофилов содержат в своем составе эластазу, миелопероксидазу и протеиназу 3, могут оказывать целенаправленную антимикробную активность, а микровезикулы нейтрофилов, транспортирующие эластазу, металлопротеиназу 9 или протеиназу 3, способствуют локальному разрушению тканей [59]. Они способны оказывать аутокринное воздействие на хемотаксис нейтрофилов [56]. Обнаружено, что микровезикулы нейтрофилов усиливают хемотаксис нейтрофилов вследствие экспрессии L- и P-селектина на своей поверхности. Они могут вызывать увеличение экспрессии тромбоцитами P-селектина [61]. Микровезикулы нейтрофилов, содержащие Мас-1, взаимодействуют с урокиназой, плазминогеном и металлопротеиназой 2 и 5, что указывает на их вовлеченность в фибринолиз и ремоделирование тканей [61]. Микровезикулы нейтрофилов, выделенные из периферической крови пациентов с сепсисом, активировали JNK1-протеинкиназу семейства MAPK в эндотелиальных клетках, что приводило к секреции ими IL6 и MCP-1 [51]; микровезикулы нейтрофилов индуцировали также экспрессию эндотелиальными клетками IL8 и молекул адгезии. Кроме того, было обнаружено, что МВ нейтрофилов связываются с эндотелиальными клетками через CD18, что приводит к увеличению экспрессии ICAM-1, а также увеличению количества активных форм кислорода в эндотелиальных клетках [62]. Микровезикулы нейтрофилов способны увеличивать экспрессию тканевого фактора (tissue factor, TF) эндотелиальными клетками, что в свою очередь приводит к образованию фактора свертываемости крови Ха [51]. Все эти факты являются показателями того, что микровезикулы нейтрофилов обладают провоспалительной активностью. Вместе с тем следует отметить, что, по данным других исследователей, микровезикулы нейтрофилов, культивируемые с эндотелиальными клетками, снижают уровень экспрессии STAT1, NF-κB, CCL8 и CXCL6 в эндо-

телиальных клетках, что приводит к противовоспалительным процессам и уменьшению воспалительных реакций [57]. К. Lim и соавт. продемонстрировали, что ингибирование образования микровезикул нейтрофилов приводит к увеличению сосудистой проницаемости [63]. Имеются данные о взаимодействии микровезикул нейтрофилов с клетками моноцитарно-макрофагальной линии. Контакт микровезикул нейтрофилов с макрофагом блокирует фагоцитоз. Микровезикулы нейтрофилов также блокируют реакцию макрофагов на зимозан и липополисахарид (ЛПС) [58]. В частности, они блокируют активацию макрофагов путем ингибирования фосфорилирования транскрипционного фактора каппа-би (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF $\kappa$ B) и его ядерной транслокации. Предполагается, что экспрессия фосфатидилсерина на МВ нейтрофилов является механизмом активации рецептора тирозинпротеинкиназы MER (MERTK) на макрофагах, поскольку блокада фосфатидилсерина блокирует активацию MERTK. При этом его экспрессия на других клеточных микровезикулах не приводила к активации этого пути. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов способствуют уменьшению секреции гамма-интерферона (interferon gamma, IFN $\gamma$ ) и TNF $\alpha$ , одновременно увеличивая секрецию трансформирующего ростового фактора бета 1 (transforming growth factor beta-1, TGF- $\beta$ 1) активированными IL2 естественными киллерами [64]. При культивировании с дендритными клетками, полученными из моноцитов, микровезикулы нейтрофилов приводили к изменению морфологии дендритных клеток, снижению их фагоцитарной активности и повышенной секреции TGF- $\beta$ 1 [65]. В этом же исследовании в присутствии микровезикул нейтрофилов, ЛПС и макрофагов последние демонстрировали снижение способности индуцировать пролиферацию Т-клеток [65]. Было обнаружено, что в присутствии МВ нейтрофилов уменьшается адгезия нейтрофилов к эндотелиальным клеткам пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) [66]. Независимо от клетки-мишени МВ нейтрофилов, положительные по аннексину V, проявляют иммуносупрессивный эффект. Участие микровезикул нейтрофилов в патологических процессах. При исследовании пациентов с различными заболеваниями почек количество микровезикул нейтрофилов было значительно увеличено у пациентов с острым и хроническим васкули-

том, IgA-нефропатией и тубулоинтерстициальным нефритом, а также у пациентов, которые подвергались гемодиализу. У пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом уровень микровезикул нейтрофилов также увеличивался, что может быть связано с увеличением скорости генерации плазмина. При инфекционных процессах наблюдается увеличение количества МВ: к примеру, в плазме людей, больных пневмонией, уровень нейтрофильных МВ был значительно выше по сравнению со здоровыми пациентами. Было показано, что повышение только циркулирующих микровезикул нейтрофилов может быть независимым маркером атеросклероза [57].

Сепсис - заболевание, характеризующееся острым системным воспалительным ответом и нарушенными иммунными реакциями, а также эндотелиальной дисфункцией и генерализованным протромботическим состоянием, приводящим к тромбозу микрососудов, полиорганной недостаточности и нередко к смерти [67]. У пациентов с сепсисом медиаторами образования МВ нейтрофилов являются бактерии и факторы, полученные из клеток хозяина. Повышение уровня нейтрофильных микровезикул может вызвать повышенную коагуляцию и адгезию тромбоцитов, приводящую к микротромбозам, повышенному воспалению сосудистой сети [61] и увеличению количества активных форм кислорода. Следовательно, при избыточном уровне микровезикулы нейтрофилов обладают иммуносупрессивными свойствами [67].

#### *1.4.4 Микровезикулы моноцитов*

Субпопуляции моноцитов отличаются по экспрессии CD14 и CD16 на своей поверхности: классические моноциты - CD14<sup>++</sup> CD16<sup>-</sup>, промежуточная популяция - CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup>, неклассические - CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup>. Их функции, секреторная активность и количество в циркуляции различны [68], но все популяции моноцитов образуют микровезикулы, количество которых соотносится с количеством клеток-источников, то есть моноцитов классического подтипа в кровотоке больше, и, соответственно, больше их микровезикул. При физиологических условиях микровезикулы моноцитов образуются из циркулирующих моноцитов при их активации или апоптозе. Микровезикулы моноцитов составляют второй по величине пул тромбогенных МВ после тромбоцитарных микровезикул [69, 70]. ЛПС-стимулированные микровезикулы моноцитов

в основном содержат митохондриальные и ядерные белки, связанные с метаболизмом и энергетическими процессами, происходящими в клетке, а после активации моноцитов Р-селектином-Ig — содержат белки плазматической мембраны, участвующие в сигнальной трансдукции и межклеточных коммуникациях [49]. В зависимости от характера стимула на клетку образуются микровезикулы с различными, в том числе заданными свойствами. Обнаружено, что микровезикулы моноцитов одновременно содержат ТФ, активированный протеин С и тромбомодулин на своей поверхности, и тем самым проявляют как про- [71], так и антикоагулянтную активность [47]. Микровезикулы моноцитов также экспрессируют эндотелиальный рецептор протеина С (ЕРСR), тем самым способствуя активации антикоагулянтного белка С при помощи тромбин-тромбомодулинового комплекса [72]. Микровезикулы, полученные из моноцитов, адгезированных на фибронектине, экспрессируют ингибитор ТФ (ТFPI), а МВ, полученные при активации моноцитов ЛПС, экспрессируют ТФ. ТF+ микровезикул моноцитов могут взаимодействовать с нейтрофилами, передавая тканевой фактор, благодаря чему нейтрофилы приобретают прокоагулянтную активность [69]. Микровезикулы, образованные клетками линии ТНР-1, экспрессируют CD15, который опосредует их связывание с Р-селектином на активированных тромбоцитах. Микровезикулы моноцитов, захваченные активированными тромбоцитами внутрь тромба с помощью механизма взаимодействия Р-селектина/гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 (PSGL-1), приводят к накоплению ТФ и в конечном итоге усиливают отложение фибрина. Моноцитарные МВ, несущие ТФ и PSGL-1, связываются с Р-селектином на поверхности эндотелиальных клеток. Моноцитарные микровезикулы индуцируют образование сосудов, что может указывать на их ангиогенное действие [70]. Микровезикулы, полученные из макрофагов, расположенных внутри атеросклеротической бляшки, экспрессируют CD40-лиганд (CD40L) и стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток после связывания с CD40. Они также опосредуют активацию лимфоцитов и ангиогенез внутри сосудистой бляшки [73]. Активация лимфоцитов поддерживается за счет экспрессии белков локуса HLA I класса и HLA II класса МВ моноцитов в сосудистой бляшке [74]. Микровезикулы моноцитов вызывают апоптоз гладкомышечных клеток,

передавая им каспазу 1 [75]. Они способны индуцировать окислительный и нитрозативный стресс в эндотелиальных клетках и регулировать экспрессию TF и фактора фон Виллебранда на них [76]. Взаимодействие микровезикул моноцитов с клетками Микровезикулы моноцитов обладают как провоспалительным, так и противовоспалительным действием. Их провоспалительная активность показана при действии на эндотелиальные клетки, фибробласты, моноциты и гладкомышечные клетки. Микровезикулы моноцитов, индуцированные ЛПС, содержат TNF $\alpha$ , IL6, IL8 и способствуют активации эндотелиальных клеток и образованию ими MB. Помимо этого, моноцитарные микровезикулы индуцируют транслокацию NF-kB в ядро эндотелиальных клеток, что приводит к продукции ими IL8 и MCP-1 [76]. Эти цитокины рекрутируют лейкоциты в очаг воспаления. Микровезикулы моноцитов инактивируют внутриклеточные сигнальные пути в эндотелии за счет фосфорилирования ERK1/2 и деградации I $\kappa$ B $\alpha$ . Это приводит к транслокации NF-kB в ядра эндотелиальных клеток, экспрессии ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина на них, что также влияет на привлечение лейкоцитов в очаг воспаления [77]. Микровезикулы моноцитов обладают аутокринным действием, индуцируя экспрессию моноцитами TNF $\alpha$  и IL6, что в свою очередь приводит к их активации [79]. При этом противовоспалительное действие микровезикул моноцитов опосредовано модификацией сигнальных путей в эндотелиальных клетках. Они снижают экспрессию pSrc (tyr416) в них, уменьшая проницаемость сосудов и повышая плотность эндотелиального монослоя. Таким образом, моноцитарные микровезикулы способствуют ограничению воспалительного процесса и сохранению (локализации) инфекционного очага. Микровезикулы моноцитов способствуют увеличению продукции оксида азота (NO) эндотелием, опосредованно через PI3-киназу и ERK1/2-зависимый путь. NO опосредует образование пероксинитрита (ONOO-), который в высоких концентрациях может индуцировать гибель клеток через апоптоз и некроз. Микровезикулы моноцитов могут вызвать апоптоз клеток гладкой мускулатуры сосудов благодаря тому, что являются источниками активной каспазы-1, NLRP3 и ASC [75]. Моноцитарные микровезикулы способствуют активации транскрипционного фактора NF-kB в альвеолярных

эпителиальных клетках, тем самым индуцируют секрецию ими провоспалительных цитокинов и хемокинов [80].

Свертывание крови играет важную роль в локализации воспалительного процесса и инфекционного очага [81]. Основными компонентами микровезикул моноцитов, которые участвуют в коагуляции, являются TF и фосфатидилсерин, активирующие факторы VII, IX, X и протромбин. Микровезикулы моноцитов прикрепляются и сливаются с тромбоцитами, передавая TF для инициирования свертывания крови [81]. Эта передача опосредована взаимодействием между PSGL-1 на МВ моноцитов и Р-селектином на тромбоцитах. Существуют факторы, повышающие активность TF на МВ, например обработка  $\Delta^9$ -тетрагидро-каннабинолом, стимуляция моноцитов ЛПС, предотвращающая деградацию мРНК TF на моноцитах. Экспрессия TF на моноцитах в свою очередь зависит от уровней TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  [79].

*Микровезикулы моноцитов в развитии различных патологических состояний*

Моноцитарные микровезикулы вовлечены в патогенез некоторых аутоиммунных заболеваний, в частности ревматоидного артрита, заключается в том, что они индуцируют образование матриксных металлопротеиназ синовиальными фибробластами, в результате чего происходит разрушение белков внеклеточного матрикса и повреждение соединительной ткани [82]. Кроме того, моноцитарные микровезикулы индуцируют секрецию фибробластами провоспалительных цитокинов — IL6, IL8, MCP-1 и MCP-2. Это приводит к ухудшению течения болезни, поскольку активируется еще больше моноцитов, которые образуют микровезикулы, и цикл повторяется, приводя в конечном итоге к повреждению костей и хрящей. Уровень микровезикул моноцитов повышен у пациентов с псориазом [83], полимиозитом, дерматомиозитом [84] и антифосфолипидным синдромом [85]. Повышенный уровень МВ моноцитов также наблюдался при серповидноклеточной анемии [67], раке легких [45], ночной пароксизмальной гемоглобинурии и сепсисе [83]. Предполагается, что роль микровезикул моноцитов в развитии рака легких обусловлена их проангиогенными свойствами [86]. Таким образом, микровезикулы моноцитов можно рассматривать в качестве биомаркеров некоторых заболеваний.

#### 1.4.5 Микровезикулы лимфоцитов

Лимфоциты составляют 25–40% лейкоцитов крови [87]. Данных о микровезикулах, образуемых лимфоцитами, в литературе очень мало. Установлено, что уровень лимфоцитарных микровезикул повышен при различных патологиях, например у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [84]. Было показано, что В-клеточные везикулы иммунологически активны, они могут усиливать антигенную презентацию, доставляя МНС II класса фолликулярным дендритным клеткам [46], а везикулы Т-лимфоцитов опосредуют киллинг клеток за счет содержания на поверхности экзосом Fas-лиганда (FasL) и TRAIL [46]. Обнаружено, что Т-лимфоцитарные микровезикулы, несущие на своей поверхности FasL, взаимодействуют с гладкомышечными клетками и активируют в них NF- $\kappa$ B, тем самым вызывая повышение экспрессии синтазы NO и циклооксигеназы 2 в них. Показано, что при обработке фоболовым эфиром, актиномицином D и фитогемагглютинином Т-лимфоциты образуют микровезикулы, несущие ген белка Sonic Hedgehog (Shh), данные микровезикулы индуцируют рост сосудов *in vitro* через активацию киназы FAK и регуляцию экспрессии ICAM-1, RhoA, VEGF и синтеза NO эндотелием [88, 89]. Другими исследователями показано, что обработка Т-лимфоцитов актиномицином D может приводить к образованию ими микровезикул с антиангиогенными свойствами. Такие микровезикулы способствуют увеличению продукции эндотелиальными клетками активных форм кислорода, повышению экспрессии CD36 и снижению экспрессии VEGFR2 [90]. Т-лимфоцитарные микровезикулы вызывают дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими IL8 и онкостатина М [91]. Данных о микровезикулах, образуемых NK-клетками, практически нет, однако некоторыми исследователями показано, что экзосомы NK-клеток обладают цитотоксическими свойствами [92], вероятно, их микровезикулы обладают сходными свойствами. При помощи метода проточной цитофлюориметрии активно изучается фенотип и количественное содержание микровезикул в периферической крови как в норме, так и при патологиях. Обнаружено, что часть микровезикул, выделенных из периферической крови, экспрессируют маркеры NK-клеток - CD45, CD16, CD56. Показано, что в периферической крови женщин с преэклампсией уровень микрочастиц NK-клеток меньше, чем у здоро-

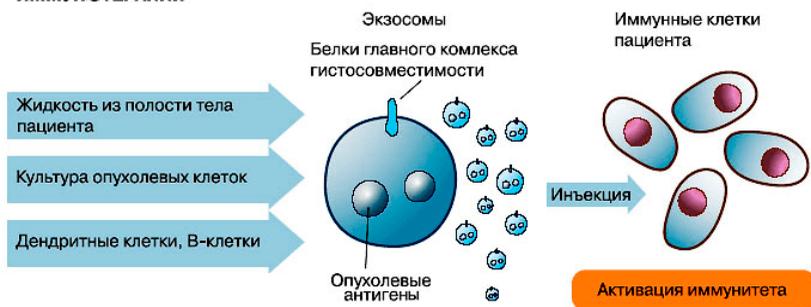
вых беременных [48]. Изучение микровезикул линейных культур при помощи проточной цитофлуориметрии показало, что НК-клетки линии NK-92 образуют микровезикулы размером от 200 до 1000 нм, часть из них экспрессируют CD95, и интенсивность экспрессии возрастает при предварительном культивировании НК-клеток с TNF $\alpha$  [93].

Внеклеточные везикулы, и в частности, микровезикулы, являются весьма перспективным объектом исследования при различных физиологических и патологических процессах. Научный и медицинский интерес к микровезикулам объясняется потенциальной возможностью их использования в качестве биологических маркеров заболеваний и универсального адресного средства доставки биологически активных веществ.

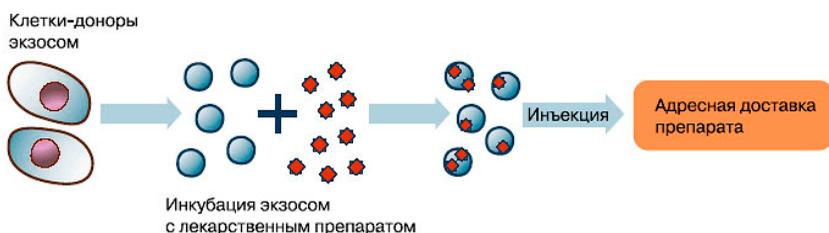
Исследованиями последних лет показано, что экзосомы могут использоваться не только для диагностики, но и для лечения. Далеко не полный список возможного терапевтического применения уже включает иммунотерапию, изготовление вакцин, модуляторы ангиогенеза, целевую доставку в ткани-мишени различных лекарственных препаратов - ферментов и препаратов на основе РНК: микроРНК, матричных РНК, малых интерферирующих РНК. Экзосомы по многим параметрам являются идеальным средством доставки лекарств. Они способны нести достаточно большие порции лекарственных препаратов, и при этом благодаря липидной оболочке предохраняют свое содержимое от разбавления и разрушения (что особенно важно, если лекарством является фермент или нуклеиновая кислота), а также могут переносить свое содержимое через плазматическую мембрану клетки. Кроме того, эти мембранные пузырьки не токсичны, так как самой природой предназначены для межклеточного обмена, и хорошо переносятся организмом, о чем свидетельствует их присутствие в биологических жидкостях. Благодаря рецепторам на их поверхности они избирательно находят клетки-мишени, тем самым повышая эффективность переноса лекарственных препаратов, белков и РНК и снижая вероятность побочных эффектов.

Экзосомы можно применять для иммунной и лекарственной терапии, а также для терапии с помощью РНК-интерференции (рисунки 10).

## ИММУНОТЕРАПИЯ



## ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ



## ТЕРАПИЯ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИМИ РНК

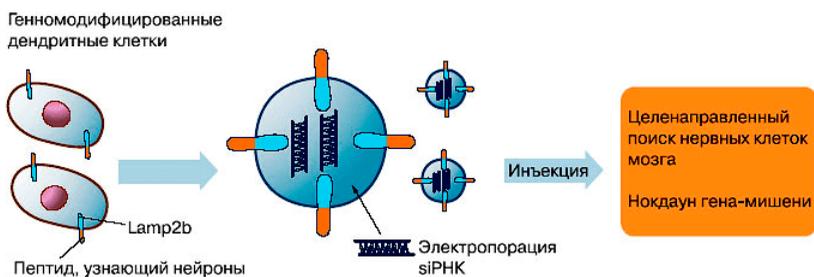


Рисунок 10 – Иммуноterapia.

Человеческие мезенхимальные стволовые клетки обладают способностью вызывать иммуносупрессию и активировать процессы регенерации. Поэтому они интенсивно исследуются на предмет их применения для лечения сердца, почек, нервной ткани, суставов и регенерации костей, а также терапии воспалительных заболеваний и подавления реакции отторжения при

трансплантации. Клинические исследования на животных показали, что терапевтическая эффективность мезенхимальных стволовых клеток опосредована не их дифференцировкой и включением в ткань-мишень, а секретлируемыми ими трофическими факторами терапевтического воздействия, одним из которых являются экзосомы. Исходя из того, что в основе терапевтической эффективности мезенхимальных стволовых клеток может лежать терапевтическое воздействие продуцируемых ими экзосом, которые, в отличие от клеток, легко переносят замораживание и оттаивание, было предложено перейти от клеточной терапии на терапию экзосомами. Для массового производства экзосом предполагается использовать культуры человеческих мезенхимальных стволовых клеток, обладающих способностью к пролиферации. Уже удалось создать постоянную «промышленную» линию таких клеток, которая с течением времени не теряет способности к делению, полностью сохраняя и способность секретировать экзосомы. В отличие от клеток, экзосомы не могут сами размножаться и поэтому не могут выйти из-под контроля и начать образовывать опухоли, а значит терапия экзосомами более безопасна, чем клеточная терапия. Перспективное терапевтическое средство представляют собой и экзосомы из культур НК-клеток - потенциальное оружие против опухолей.

## **1.5 Иммунные контрольные точки**

Состояние иммунной системы во многом определяет противоопухолевый статус организма. Недостаточный иммунный ответ создает благоприятные условия для развития злокачественных новообразований и инфекций, а слишком сильный может приводить к развитию аутоиммунных заболеваний [94].

В последние годы бурно развивается новое направление в иммунологии – клеточная иммунотерапия, суть которой заключается в блокаде иммунологических эффекторных клеток посредством различных ингибиторов, так называемыми иммунными контрольными точками (ИКТ) [95].

Важную роль в противоопухолевом иммунитете играет клеточно-опосредованный иммунный ответ. Т-клеточные иммунные реакции начинаются с распознавания рецепторами наивных Т-

лимфоцитов процессированных пептидных опухолевых антигенов, представленных на мембране антигенпрезентирующих клеток (АПК), таких как дендритные клетки, В-лимфоциты и макрофаги, совместно с молекулами главного комплекса гистосовместимости (Major histocompatibility complex, МНС) II класса.

Для полной активации цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8) этого недостаточно, необходим также баланс между дополнительными костимулирующими и коингибирующими сигналами, которые контролируют выраженность и длительность иммунного ответа и толерантность иммунных клеток к собственным антигенам [96-98].

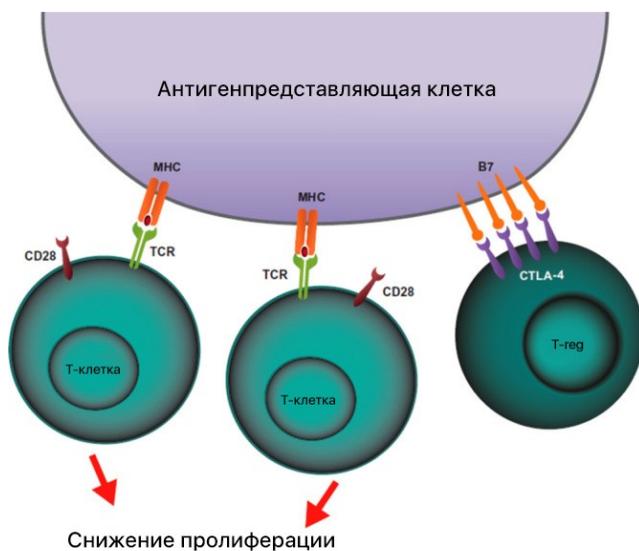
Взаимодействие иммунной системы с опухолевыми клетками начинается с поглощения АПК опухолевого антигена, его обработки, фрагментации и презентации в виде пептидных фрагментов в ассоциации с молекулами МНС. АПК представляют опухолевые антигены Т-лимфоцитам, в результате чего Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки и клетки памяти. Активированные Т-лимфоциты распознают антигены, расположенные на поверхности клеток опухоли, и, выделяя цитокины, уничтожают опухолевые клетки [99-101].

Для полной активации Т-лимфоцитов необходимо формирование двух сигналов - антигенспецифического (с участием молекул МНС) и положительного костимулирующего. Рецепторы, принимающие участие в формировании этих сигналов (мембранные белки CD28, CD40, экспрессированные на Т-лимфоцитах), относятся к ИКТ. Помимо активирующих сигналов могут возникать отрицательные костимулирующие сигналы, ингибирующие активность клеток иммунной системы, ослабляющие иммунный ответ и предотвращающие развитие аутоиммунных реакций. Характер действий Т-лимфоцитов, таким образом, зависит от баланса активирующих и ингибирующих сигналов [102-104].

Наиболее изученным и актуальным является воздействие на рецепторы CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) и PD-1 (programmed cell death protein 1).

Цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный протеин 4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4, CTLA-4) - мембранный ингибирующий рецептор, который экспрессируется CD4 и CD8 Т-лимфоцитами и конкурирует с рецептором CD28 за лиганд семей-

ства В7. CD28 также экспрессируется на Т-лимфоцитах и является костимулирующим сигналом, но CTLA-4 обладает более высокой avidностью для своих лигандов, чем CD28, что свидетельствует о преобладании сигналов ингибирования при активации иммунного ответа. Лигандами для CD28 и CTLA-4 являются белки В7 (классические костимулирующие молекулы), которые экспрессируются АПК. Белки семейства В7 представлены двумя видами - В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86). Для активации начала пролиферации Т-лимфоцитов нужно, чтобы молекула CD80 или молекула CD86 на поверхности АПК связалась с рецептором CD28 на Т-лимфоците (рисунок 11).



**Рисунок 11 – Экспрессия CTLA4**

При связывании рецептора CTLA-4 и лиганда В7 передача сигнала блокируется. Соотношение количества связей CD28:В7 и CTLA-4:В7 сигнализирует, начнется ли пролиферация Т-лимфоцитов или нет. Связывание этого рецептора CTLA-4 с лигандом В7 на поверхности АПК приводит к понижению Т-лимфоцитарной активности (ингибированию активации и пролиферации Т-лимфоцитов) уже на этапе инициализации иммунного ответа [105-110].

Белок запрограммированной клеточной гибели-1 (programmed cell death protein 1, PD-1) - мембранный рецептор, экспрессируется на поверхности уже активированных Т-лимфоцитов и осуществляет регуляцию иммунного ответа на эффекторной стадии. PD-1 имеет лиганды программируемой клеточной гибели PD-L1 (programmed cell death ligand 1) и PD-L2 (programmed cell death ligand 2), которые могут находиться на поверхности как АПК, так и опухолевых клеток [104-113].

Взаимодействие PD-1 с лигандом PD-L1 снижает продукцию цитокинов, цитолитическую активность и пролиферацию лимфоцитов. Это влечет за собой снижение уровня факторов транскрипции NFκB и AP-1, уменьшение высвобождения цитокинов, включая интерферон-γ и интерлейкин-2, снижение пролиферативной и функциональной активности Т-клеток, их истощение и апоптоз. PD-1 также может влиять на выживаемость Т-клеток путем подавления активации антиапоптотических белков (таких как Bcl-xL) и на их эффекторные функции за счет снижения уровня факторов транскрипции Т-клеток Tbet, GATA3 и Eomes [114-118].

Физиологическая роль сигнальных путей CTLA-4 и PD-1 заключается в предотвращении развития избыточно сильного иммунного ответа. Белок CTLA-4 регулирует активацию наивных Т-лимфоцитов в лимфоидных тканях, где инициируется иммунный ответ, а PD-1 ограничивает активность эффекторных Т-лимфоцитов в тканях на периферии, осуществляя контроль над реализацией иммунного ответа, запуская процессы апоптоза цитотоксических лимфоцитов и тем самым ограничивая аутоиммунитет [119-123].

Опухолевые клетки уклоняются от распознавания цитотоксическими CD8 Т-лимфоцитами путем уменьшения или изменения экспрессии молекул МНС [123]. Кроме того, опухолевые клетки могут не экспрессировать молекулы CD80 и CD86, распознаваемые корецептором CD28 на поверхности CD8 Т-лимфоцитов. Без сигнала, поступающего с корецептора, во время презентации опухолевого антигена CD8 Т-лимфоцитам происходит не активация, а, напротив, полная потеря Т-лимфоцитами способности как воспринимать, так и реагировать на любые сигналы извне (анергия) [124].

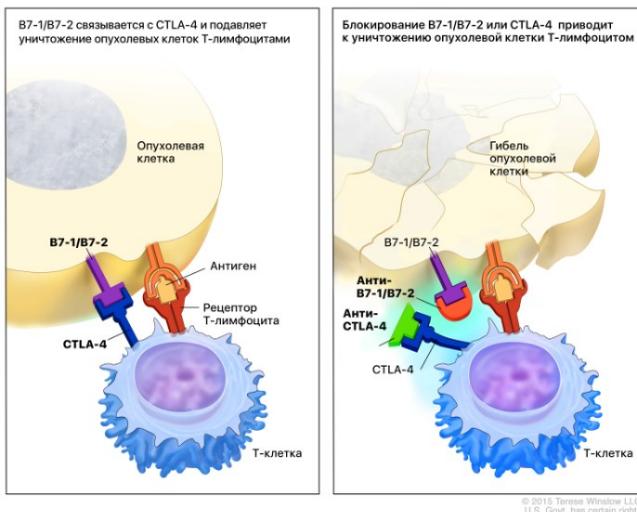
Другим вариантом иммуносупрессии опухолевых клеток является продукция факторов, которые преобразовывают неактивные Т-лимфоциты в Т-регуляторные лимфоциты (regulatory T cells, Treg). Они, в свою очередь, подавляют пролиферацию эффекторных Т-лимфоцитов и выработку цитокинов эффекторными клетками, а также угнетают пролиферацию В-лимфоцитов и выработку ими антител [125].

К альтернативным механизмам избегания опухолью иммунологического надзора относится способность клеток опухоли воздействовать на ИКТ (CTLA-4, PD-1), подавляя функцию цитотоксических Т-лимфоцитов. Природная иммунорезистентность опухоли может быть связана с экспрессией на поверхности злокачественных клеток лигандов PD-L1/L2, которые, связываясь с рецептором PD-1, ингибируют активность цитотоксических Т-лимфоцитов и тем самым подавляют противоопухолевый иммунный ответ [126-129]. Блок механизмов периферической толерантности, анергии и истощения Т-лимфоцитов ведет к восстановлению их функции, в результате чего происходит регрессия процесса уклонения раковых клеток от иммунного надзора и уничтожение опухоли [130-135].

В норме контрольные точки служат для предотвращения аутоиммунного повреждения тканей. Опухолевые клетки приспособились использовать эти ингибиторы, чтобы уйти от иммунного контроля и элиминации. На основе этих данных были получены лекарственные средства, способные ингибировать контрольные точки, тем самым создавая возможность собственному иммунитету уничтожать опухолевые клетки. На основе этих данных были разработаны препараты моноклональных антител, нацеленных на CTLA-4 и на PD-1 или его лиганд PD-L1.

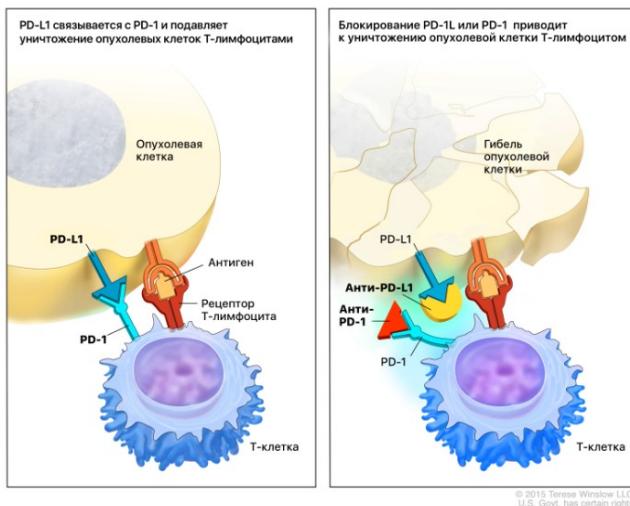
Препараты первой группы (ипилиумаб) блокируют рецептор CTLA-4, который экспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов после их активации (рисунок 12).

Связывание этого рецептора с молекулой В7 на поверхности АПК приводит к торможению Т-клеточного ответа на этапе его инициализации. Блокада активности CTLA-4 на клетках иммунной системы снижает влияние отрицательной регуляции и позволяет в большей степени реализоваться уже существующему иммунному ответу на опухоль [100, 103].



**Рисунок 12 – Блокирование CTLA4**

Препараты второй группы (ниволумаб и пембролизумаб) блокируют связывание рецептора PD-1 лимфоцитов и моноцитов с лигандами PD-L1 и PD-L2, тем самым усиливая иммунный ответ (рисунок 13).



**Рисунок 13 – Блокирование PD-L1 или PD-1**

Лиганды PD-L1 и PD-L2 рецептора PD-1 экспрессируются на поверхности клеток периферических тканей организма, в том числе и на клетках опухоли. Селективная блокада взаимодействий между PD-L1 и PD-1 приводит к усилению противоопухолевого иммунного ответа, который может привести к элиминации опухоли [100, 103].

## **ГЛАВА 2. ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

### **2.1 Иммунопатогенез урогенитальных инфекций**

Хронические воспалительные заболевания репродуктивного тракта женщин являются одной из причин снижения иммунологической реактивности и формирования иммунокомпрометированности организма [136].

В возникновении и обострении воспалительных заболеваний гениталий важная роль принадлежит не только микроорганизмам, но и состоянию макроорганизма, уровню его защитных сил к моменту воспаления. Огромное значение в развитии воспалительного процесса, эффективности лечебных мероприятий и исходе заболевания имеет состояние иммунологической реактивности [137].

В настоящее время установлено, что иммунопатологическое состояние проявляется не только уменьшением общего количества иммунокомпетентных клеток, но и нарушением кооперационных связей между субпопуляциями клеток иммунной системы.

При хронических воспалительных заболеваниях репродуктивного тракта наблюдается приобретенная функциональная неполноценность клеток-эффекторов воспаления, прежде всего полиморфоядерных лейкоцитов. Эта неполноценность может проявиться снижением их адгезивных свойств, рефрактерностью к хемокинам и нарушением миграции в очаг, торможением способности набирать факторы резистентности [138]. Вначале воспалительного процесса происходит увеличение количества функционально активных моноцитов по сравнению с их количеством у здоровых женщин, а затем прослеживается отчетливая тенденция к снижению в связи с постепенным истощением фагоцитарной системы.

При хронических воспалительных заболеваниях репродуктивного тракта характерен относительный дефицит Т-хелперов за счет их более быстрого апоптоза и увеличение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов. При хроническом сальпингоофорите установлено как увеличение содержания В-лимфоцитов, так и снижение их уровня. Повышение уровня иммуноглобулина А и М обнаружено при экссудативной форме хронического сальпинго-

офорита, а при спаечной форме – снижение иммуноглобулинов А и G и повышение иммуноглобулина М [139, 140].

Важным фактором хронизации воспалительного процесса является включение иммунокомплексных механизмов, сопровождающихся фиксацией иммуноглобулинов G и M и комплемента в стенках мелких сосудов маточных труб, высоким уровнем циркулирующих иммунных комплексов, появлением в тканях придатков матки плазматических клеток, содержащих иммуноглобулины G и M, и персистенции антигена вследствие неутилизированного комплекса антиген-антитело, в котором сохраняется в вирулентном состоянии микроб или вирус [141].

Сопоставление уровня иммунологических реакций по данным исследований периферической крови, с одной стороны, и по данным локальных тестов – с другой, позволяет выявлять случаи, когда общая и местная иммунореактивность бывают или одинаковыми, или отличаются друг от друга.

В последние годы обнаружено кооперативное взаимодействие между полиморфоядерными (нейтрофилами) и мононуклеарными (моноцитами) фагоцитами крови человека с участием растворимых продуктов клеток и молекул их цитоплазматических мембран [142]. Изучение функции иммунокомпетентных клеток и медиаторов межклеточных взаимодействий, обеспечивающих кооперацию различных субпопуляций клеток, участвующих в развитии хронического воспаления, открывает возможности для целенаправленной коррекции этих процессов. При изучении содержания нейтрофилов в периферической крови и их функциональной активности у больных хроническим сальпингоофоритом выявлено, что у больных в стадии обострения имела место тенденция к росту числа нейтрофилов и их функциональной активности в спонтанном НСТ-тесте. Наряду с нейтрофилами первую линию антибактериальной защиты организма представляют моноциты. Подобно нейтрофилам моноциты обладают способностью захватывать, убивать и переваривать микроорганизмы. Однако моноциты обеспечивают не только резистентность организма к возбудителям, но и участвуют в иммунном ответе, представляя антигены лимфоцитам, продуцируя регулирующие иммунный ответ медиаторы, в частности, интерлейкин-1 (ИЛ-1) и осуществляя кооперацию участвующих в иммунном ответе клеток [142]. Функциональная

активность моноцитов оценивалась по секреции ими ИЛ-1, который является пусковым сигналом к развитию специфического иммунитета. При обострении хронического процесса и во время ремиссии наблюдалось значительное снижение функциональной активности моноцитов на всем протяжении заболевания. ИЛ-1-продуцирующая активность моноцитов у больных хроническим воспалением придатков во время обострения и ремиссии была достоверно ниже, чем у здоровых женщин и больных острыми сальпингоофоритами. Сделан вывод о том, что функциональные возможности нейтрофилов и моноцитов у больных хроническим воспалением придатков матки снижены. Это выражается также в снижении функционального резерва и недостаточной продукции ИЛ-1, что влечет за собой нарушение кооперативного взаимодействия моноцитов, нейтрофилов и других клеток, участвующих в иммунном ответе и является следствием функционального истощения иммунокомпетентных клеток в результате постоянного длительного антигенного раздражения (развитие иммунологической толерантности в условиях относительно высокой антигенной нагрузки).

Вторая линия защиты при инфекционных поражениях представлена специфическим клеточно-опосредованным иммунитетом [143, 144]. Для больных хроническими сальпингоофоритами характерно отсутствие статистически достоверных отличий в содержании Т- и В-лимфоцитов периферической крови независимо от стадии заболевания, несмотря на выраженный лимфоцитоз в начале обострения. Показатели относительного содержания Т-хелперов при хроническом процессе достоверно ниже соответствующих параметров при остром воспалении, в то время как в абсолютном содержании этих клеток достоверных отличий от показателей доноров и больных острым воспалением не выявлено.

Нами [145] были изучены особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови женщин с воспалительными заболеваниями репродуктивного тракта в зависимости от состояния репродуктивной функции женщин: 1 группа (93 женщины) – с ненарушенной репродуктивной функцией, 2 группа (38 женщин) – с невынашиванием беременности в анамнезе, 3 группа (21) – с бесплодием, показывают следующее. В первой группе пациенток с ненарушенной репродуктивной функцией на фоне не-

большого повышения относительного содержания лимфоцитов установлено снижение ( $P < 0,05$ ) относительного содержания зрелых лимфоцитов (CD3+) и Т-хелперов (CD4+). Умеренное снижение иммунорегуляторного индекса ( $1,29 \pm 0,36$ ) произошло за счет снижения относительного содержания CD4+ лимфоцитов. Содержание CD8+, CD20+лимфоцитов, натуральных киллеров (CD16+, CD56+) и лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы адгезии (CD11b+), не отличались от значений контрольной группы. Анализ уровня экспрессии активационных маркеров показал, что относительное и абсолютное содержание CD25+лимфоцитов было повышено ( $P < 0,05$ ) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы. В то же время экспрессия HLA-DR+антигенов и CD95+рецепторов на поверхности лимфоцитов не отличалась от контроля. В этой группе пациенток повышение экспрессии рецепторов к ИЛ-2 (CD25) свидетельствовало об адекватном иммунном ответе с активацией лимфоцитов цитокинами Tх1-профиля.

Во второй группе больных (с невынашиванием беременности в анамнезе) по средним значениям показателей субпопуляций лимфоцитов достоверных отличий в сравнении с контрольной группой не выявлено. Но индивидуальные значения содержания субпопуляций лимфоцитов колебались в широких пределах. У  $1/3$  пациенток регистрировалось резкое снижение содержания CD3+-клеток и у 65,7% – снижение CD4+-клеток. Разнонаправленность изменений наблюдалась также с показателями цитотоксических клеток, у  $1/4$  пациенток содержание CD8+-лимфоцитов было сниженным и у 14,2% - повышенным. Содержание В-лимфоцитов не отличалось от контроля. Наблюдалась выраженная разбалансировка показателей содержания натуральных киллеров. У  $1/4$  пациенток уровень CD16+ был повышен, а у 8,5% – резко снижен, при этом содержание другой популяции натуральных киллеров CD56+ было повышенным у  $1/3$  пациенток и сниженным у  $1/3$ . Следует отметить, что повышенное содержание CD16+лимфоцитов сопровождалось снижением содержания CD3+, CD4+клеток при нормальном уровне CD8+-лимфоцитов. При анализе активационных маркеров установлено повышение ( $P < 0,05$ ) относительного и абсолютного содержания CD25+лимфоцитов по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы. Повышение экспрессия раннего активационного маркера HLA-DR+ наблюдалось у 42,8%,

а позднего CD95+ - у 48,5% женщин. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы адгезии (CD11b+), не отличалось от контроля.

В третьей группе (с бесплодием) наблюдалось достоверное снижение относительного и абсолютного содержания зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов. Снижение иммунорегуляторного индекса ( $0,96 \pm 0,27$ ) произошло за счет снижения содержания CD4+лимфоцитов. Содержание цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов не отличалось от контроля. Среднее содержание натуральных киллеров (CD16+) не отличалось от контроля, при этом у большей половины женщин наблюдалось высокое содержание их в крови и у 46,6% остальных – нормальное содержание. В то же время регистрировалось снижение лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к Fc-IgG (CD56+), то есть способных к анти-телозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).

В этой группе отмечалось достоверное повышение содержания лимфоцитов, экспрессирующих как ранние, так и поздние активационные маркеры (CD25+, HLA-DR+, CD95+). При этом содержание лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы адгезии (CD11b+), не отличалось от контроля.

Таким образом, при ненарушенной репродуктивной функции у женщин на фоне персистирующих бактериально-вирусных инфекций наблюдается снижение относительного содержания зрелых лимфоцитов и Т-хелперов и повышение активированных лимфоцитов. У женщин с невынашиванием беременности в анамнезе с различной степенью нарушения наблюдается картина разнонаправленных изменений субпопуляционного состава лимфоцитов. Это указывает на различные иммунологические механизмы формирования невынашивания беременности – повышение активности цитотоксических лимфоцитов CD8+ и недостаточная или чрезмерная активность естественных киллеров. У женщин с бесплодием отмечается выраженная депрессия Т-клеточного звена как со снижением общего содержания Т-клеток, так Т-хелперов, несмотря на достоверное повышение активных лимфоцитов. Такой выраженный дисбаланс указывает на чрезмерный активационный апоптоз Т-лимфоцитов.

Также нами изучены цитокиновый профиль ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИНФ $\gamma$ , ФНО $\alpha$  у 199 женщин с воспалительными заболеваниями

половых органов на фоне персистирующих бактериальных и вирусных инфекций в зависимости от наличия нарушения репродуктивной функции: 1 группа (98 женщин) – с ненарушенной репродуктивной функцией, 2 группа (42 женщины) – с невынашиванием беременности в анамнезе, 3 группа (59) – с бесплодием.

У всех исследуемых групп женщин средние показатели цитокинового профиля крови не отличались от контроля и колебались в широких пределах. Поэтому дальнейший анализ продукции цитокинов проводили по частоте встречаемости высоких показателей. При анализе индивидуальных показателей регистрировались как повышенные - превышение контрольных значений в 2 раза, так высокие показатели – 4-х кратное и более увеличение. Было установлено, что в группе с ненарушенной репродуктивной функцией наблюдалась активация цитокинов Тх1-профиля, что подтверждалось в регистрации повышенного содержания цитокина ИНФγ в сыворотке крови почти у половины (46,3%) больных, с высокой продукцией их у 41,8% больных, причём у 11,9% женщин содержание ИНФγ превышало контрольные значения в 60-100 раз (цитокиновый взрыв). У ¼ больных наблюдалось повышение содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ФНОα, с высокой их продукцией у 20,5% и у 19,7% больных соответственно. При этом повышение продукции ИЛ-4, отражающего Тх-2 тип иммунного ответа, наблюдалось только у 11,1%, с высокой продукцией – у 7,4% пациенток. Высокий уровень продукции ИЛ-6, оказывающего плеiotропное действие, наблюдался у 16,7% больных.

В группе с невынашиванием беременности в анамнезе у ¼ женщин наблюдалось высокое содержание провоспалительного цитокина ИЛ-1β и цитокинов Тх-1 профиля ИНФγ. При этом активация цитокина Тх1-профиля ФНОα отмечалась у 12,5% женщин, а цитокинов Тх-2 профиля ИЛ-4 наблюдалась в 18,2% случаев.

В группе пациенток с бесплодием адекватно высокая продукция провоспалительного цитокина ИЛ-1β регистрировалась в 20,0% случаев. Продукция другого провоспалительного цитокина ФНОα у 7,1% больных была повышенной. У ⅓ пациенток наблюдалось повышенное содержание ИНФγ. Активация цитокинов Тх-2 профиля наблюдалась в 11,1% случаев, при этом высокая их продукция только в 3,7% случаев.

Таким образом, при ненарушенной репродуктивной функции содержание провоспалительных цитокинов, цитокинов Тх1- и Тх2-профиля в почти половине случаев повышено, при невынашивании беременности наблюдается дисбаланс продукции цитокинов, при бесплодии – дефицит провоспалительных и Тх-2 профиля цитокинов.

#### *Факторы местного иммунитета репродуктивного тракта женщин при генитальной инфекции*

Каждый отдел репродуктивного тракта женщин представляет в иммунном отношении дискретную область, поэтому изменения факторов противоинфекционной резистентности при воспалительных заболеваниях гениталий рассматриваются в зависимости от уровня поражения [146].

В вагинальной слизи коцентрация специфических антител превышает концентрацию в сыворотке крови, при этом локально синтезируются секреторные иммуноглобулины А [147].

При кольпите происходят изменения не в системном клеточно-опосредованном иммунитете, а именно в локальном, что убедительно показано на примере кандидозной инфекции [148]. Возникает обратная корреляционная связь между содержанием CD3+ и CD4+лимфоцитов слизистой влагалища [149]. Цитотоксические лимфоциты не только обнаружены в слизистой вагины, но и установлено увеличение их количества при воспалительном процессе [150].

Также установлено, что во влагалище присутствуют Т $\gamma$  $\delta$ -клетки, причем в количестве большем, чем в крови, и они играют большую роль в репаративных процессах при воспалении [151].

Одной из причин развития воспалительного процесса во влагалище является наличие рецепторов С3 на эпителиальных клетках, которые могут способствовать адгезии микроорганизмов [152]. Считается, что обнаруженные в слизистой вагины макрофаги играют антигенпрезентирующую функцию при инфекции [153].

При инфицировании репродуктивного тракта шейке матки принадлежит основная защитная функция на пути восходящей генитальной инфекции. Автономность гуморального иммунитета цервикса доказывают многочисленные работы, результа-

ты которых демонстрируют обнаружение специфических иммуноглобулинов G при ВИЧ-инфекции, иммуноглобулинов A при герпетической, папилломавирусной, хламидийной, стрептококковой инфекциях в титрах, превышающих уровень антител в сыворотке крови. При местной иммунизации различными микроорганизмами также повышается концентрация антител цервикального секрета [154]. Концентрация специфических антител в цервикальном секрете превосходит их уровень в вагинальной слизи почти в два раза [155]. Результаты исследования специфических иммуноглобулинов, полученные при местной иммунизации, объясняются авторами тремя уровнями специфического иммунитета: 1) иммунитет слизистых, 2) иммунитет периферических лимфоузлов, 3) иммунитет циркулирующей крови.

При цервиците происходит увеличение Т-лимфоцитов, нарушается соотношение CD4/CD8, уменьшается число натуральных киллеров, в строме шейки матки при воспалительном процессе нарастает число макрофагов [156]. При некоторых инфекциях возрастает количество цитотоксических лимфоцитов.

Перспективным для прогнозирования воспалительных заболеваний представляется изучение изменений в системе цитокинов, обеспечивающей процессы межклеточной кооперации, роста и дифференцировки клеток, принимающих участие в развитии иммунного ответа.

Эпителиальные клетки цервикса способны продуцировать цитокины и  $\gamma$ -интерферон, которые участвуют в локальных иммунных реакциях [157]. Установлено, что концентрация ИЛ-10 возрастает при бактериальном вагинозе, гонорее, трихомониазе [158, 159]. Высокий уровень ИЛ-8 в цервикальной слизи авторы связывают с преждевременными родами, зарегистрированная при этом повышенная концентрация простагландинов E<sub>2</sub>, по-видимому, стимулирует продукцию ИЛ-8.

При хроническом цервиците определяются низкие уровни ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО $\alpha$ , при обострении генитальной инфекции регистрируются повышенные концентрации данных цитокинов. Содержание ИЛ-8 при любом варианте течения цервицита высокое. У женщин с псевдоэрозией шейки матки отмечается недоста-

точность ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  в цервикальном секрете. Нельзя исключить, что селективный дефект локальной продукции ФНО $\alpha$  является одним из факторов трансформации эпителия шейки матки из многослойного плоского в цилиндрический [157].

При цервикальной дисплазии, ассоциированная с папилломавирусной инфекцией, концентрация ИЛ-1 $\beta$  увеличивается в 2,5 раза, а ТФР $\beta$  – в 4 раза, в то же время наблюдается снижение ФНО $\alpha$  в 1,4 раза. Хламидийная, герпетическая и цитомегаловирусная инфекция характеризуется однонаправленным повышением содержания ФНО $\alpha$  с более высокими концентрациями при герпетической и цитомегаловирусной инфекциях. В свою очередь, хламидийное поражение шейки матки сопровождается увеличением содержания ТФР $\beta$  в 4 раза по сравнению со здоровыми женщинами, при инфицировании герпетической и цитомегаловирусной инфекции продукция этого ростового фактора не менялась [160].

У инфицированных туберкулезом женщин с дисплазией эпителия шейки матки наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ФНО $\alpha$  цервикальной слизи в 4,6 и 2,6 раза соответственно и снижение ИЛ-4 - в 1,8 раза по сравнению с показателями здоровых женщин [161].

При бактериальном вагинозе повышается концентрация ИЛ-1 $\beta$ , индукторов развития гуморального и клеточного иммунного ответа ИЛ-4 и ИНФ $\gamma$ , ЦИК.

Матка была отнесена к иммунопривилегированным зонам, подобно мозгу и передней камере глаза. В настоящее время известно, что внутриматочный инфекционный процесс может развиваться как в результате восходящей генитальной инфекции, так и вследствие гематогенного распространения. При этом установлено, что матка обладает различными защитными клеточными и гуморальными факторами иммунитета [162]. Для хронического процесса характерно наличие воспалительных инфильтратов, состоящих, преимущественно, из лимфоцитов, плазматических клеток и нейтрофилов. Количество натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов возрастает при воспалительном процессе в полости матки [163].

При исследовании концентрации иммуноглобулинов в эндометриальном секрете у больных острым эндометритом было определено повышенное содержание IgA и IgG, что обусловлено

активацией В-клеток памяти, проникающих из периферических лимфоузлов, при этом не претерпевающих стадию пролиферации для выработки антител. Отсутствие IgM у этих больных может быть объяснено активацией супрессорных клеток в слизистой матки. При хроническом эндометрите зарегистрированы высокие показатели иммуноглобулинов всех трех классов, что, по всей вероятности, обусловлено увеличением количества плазматических клеток при данном заболевании.

#### *Субпопуляционный состав лимфоцитов эндометрия*

Нами изучены субпопуляционный состав лимфоцитов и активационные маркеры эндометрия у 20 женщин с невынашиванием беременности в анамнезе на фоне персистирующих бактериальных и вирусных инфекций. На локальном уровне в эндометрии достоверно ( $P < 0,05$ ) сниженным оказалось содержание CD56+лимфоцитов. Анализ уровня экспрессии активационных маркеров показал, что относительное содержание CD25+лимфоцитов было сниженным ( $P < 0,05$ ) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы. Снижение ранней активации отмечалось преимущественно в популяции CD56+лимфоцитов, что проявлялось достоверным ( $P < 0,05$ ) снижением пула CD56+CD25+клеток. Изучение экспрессии рецепторов к ИЛ-2 (CD25) у отдельных субпопуляций CD4+, CD8+ и CD16+ лимфоцитов не отличалось от контроля. В то же время отмечалась достоверное (при  $P < 0,05$ ) повышение клеток, готовых к апоптозу (CD95+). При этом экспрессия рецептора CD95+ у отдельных популяций лимфоцитов достоверно не отличалась от контроля, что связано с большим разбросом показателей. Полученные результаты свидетельствуют, что на локальном уровне в эндометрии у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе постоянная стимуляция патогенными микроорганизмами приводит к снижению содержания CD56+лимфоцитов, снижению экспрессии ранних активационных маркеров и повышенной готовности клеток к апоптозу. При нарушенной репродуктивной функции на фоне персистирующих инфекций в крови и в эндометрии наблюдается картина разнонаправленных изменений субпопуляционного состава лимфоцитов, указывающие на различные механизмы формирования невынашивания беременности – недостаточная или чрезмерная активность цитотоксических CD8+ и

CD16+лимфоцитов, повышение активных лимфоцитов в крови и снижение их содержания на локальном уровне, с выраженным их апоптозом.

#### *Цитокиновый профиль перитонеальной жидкости*

Изучены уровни ФНО $\alpha$  и ИЛ-4 в перитонеальной жидкости у 35 женщин с бесплодием. Всем женщинам проводилась лапароскопия с функциональной оценкой маточных труб, во время которой производился забор перитонеальной жидкости. Средние показатели содержания цитокинов перитонеальной жидкости достоверно не отличались от периферической крови, что связано с широким разбросом индивидуальных показателей. Анализ содержания цитокинов по проценту встречаемости высоких показателей показал, что при бесплодии на фоне персистирующих инфекций в перитонеальной жидкости повышенное содержание ФНО $\alpha$  встречалось в 4,6 раза чаще, чем повышенное содержание ИЛ-4. При этом высокая продукция (в 4 и более раза) ФНО $\alpha$  наблюдалось у 11,1%.

При сравнении цитокинового статуса крови и перитонеальной жидкости при нарушенной репродуктивной функции выявлено, что по мере нарушения репродуктивной функции адекватно высокая продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-6) наблюдается реже. При бесплодии развивается выраженный дефицит как провоспалительных, так и Тх2-профиля (ИЛ-4) цитокинов крови.

В перитонеальной жидкости по сравнению с периферической кровью повышенное содержание провоспалительного цитокина ФНО $\alpha$  встречалось в 8 раз чаще, высокое – в 1,6 раза, а повышенное содержание ИЛ-4 – с одинаковой частотой. Таким образом, картина цитокинового профиля при нарушенной репродуктивной функции характеризуется отсутствием продукции провоспалительных цитокинов в периферической крови и высокой продукцией в перитонеальной жидкости.

Повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в полости матки приводит к «внутриматочному воспалительному синдрому», что, как правило, заканчивается прерыванием беременности [164-166].

На материале биоптатов эндометрия изучены местные иммунные реакции. У женщин с хроническим эндометритом и

сальпингоофоритом, ассоциированных с хламидиями, отмечено снижение активности мононуклерных фагоцитов, вторичный дефицит sIgA при относительно сохранном уровне IgA-продуцирующих плазмоцитов, умеренной интенсивности синтеза IgG, смещение иммунорегуляторного индекса в сторону снижения. У женщин с бактериальным вагинозом и кандидозом отмечено снижение фагоцитарной активности гранулоцитов и макрофагов, выраженное угнетение продукции плазмоцитами IgA с резким снижением представительства sIgA и существенным увеличением числа IgG-синтезирующих клеток [167].

Неспецифические эндометриты занимают одно из первых мест в структуре гинекологической заболеваемости. Эндометриты сопровождаются снижением системного иммунитета и поражением локальных защитных факторов иммунитета. В течение любого воспалительного процесса, в том числе и в полости матки, большое значение имеет соотношение про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и очаге воспаления.

При исследовании продукции цитокинов в периферической крови у женщин, страдающих хроническим эндометритом в сочетании с бесплодием, выявлено, что увеличение субпопуляции Т-хелперов сочетается с повышенной спонтанной продукцией ИЛ-2 и ИНФ $\gamma$ . Индуцированная продукция ИНФ $\alpha$  и ФНО $\alpha$  в исследованной группе была ниже нормативных значений. Высокий уровень ИНФ $\alpha$  в сыворотке крови способствует поддержанию воспалительного процесса в очаге, так как усиливает экспрессию МНС-II и влияет на цитотоксическую активность НК-клеток, инфильтрирующих строму эндометрия. При исследовании смывов из полости матки выявлен дисбаланс цитокинов: высокий уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8) и низкий - противовоспалительных (ИЛ-4, ТФР $\beta$ ) [168].

Исследованию иммунопатогенеза сальпингита уделяют большое внимание [169]. При изучении фрагментов маточных труб при гнойном сальпингите этими авторами установлено, что в трубах фиксируются иммунные комплексы, состоящие из IgG, IgM и комплемента. В собственной пластинке в инфильтратах были обнаружены нейтрофилы, IgG и плазматические клетки, положительные на IgG.

Методом RT-PCR оценена продукция мРНК ИЛ-2, -4, -6, -8, -10, -12, -15, -18, ИНФ $\gamma$  и ТФР $\beta$ 2 в мононуклеарных клетках периферической крови. У женщин с гнойно-воспалительными заболеваниями придатков матки повышена экспрессия генов «провоспалительных» цитокинов, увеличены соотношения ИНФ $\gamma$ /ИЛ-10, ИНФ $\gamma$ /ИЛ-4, ИЛ-2/ИЛ-4, ИЛ-2/ИЛ-10 и ИЛ-12/ИЛ-10. Уровни хемокина ИЛ-8 и монокина ИЛ-15 снижены в 60 и 4 раза соответственно [170].

При воспалительных заболеваниях придатков матки вирусной этиологии исследовали интерфероновый статус с определением сывороточного ИНФ, уровня продукции лейкоцитами ИНФа при индукции вирусом болезни Ньюкасла и уровня продукции ИНФ $\gamma$  при индукции фитогемагглютинином. У подавляющего большинства исследованных женщин отмечалось стойкое снижение продукции клетками крови ИНФа и ИНФ $\gamma$  в 2 раза и у половины – повышение содержания сывороточного ИНФ [171].

Аутоиммунный оофорит как сложная многофакторная нозологическая форма преждевременной недостаточности яичников до 23% клинических наблюдений обусловлена инфекционным агентом. При изучении содержания провоспалительных цитокинов (ИНФ $\gamma$ , ИЛ-1, ФНО $\alpha$ ) у женщин с аутоиммунным оофоритом на фоне персистирующей хламидийной инфекции выявлено увеличение их содержания в 2-2,8 раза [172].

Таким образом, локальный иммунный комплекс репродуктивного тракта женщин является сложной, относительно автономной системой со своей собственной регуляторной сетью. Местный иммунитет гениталий представлен достаточно большим числом иммунологических факторов, претерпевающих изменения при генитальной инфекции. Каждый из органов половой системы женщин дискретен как в анатомо-физиологическом отношении, так и в иммунном. При этом остаются мало изученными иммунологические факторы, особенно клеточные, секретов репродуктивного тракта - вагинального, цервикального и эндометриального и перитонеального экссудата.

### *Эндотелиальная дисфункция и нарушения гемостаза*

Обязательным компонентом патогенеза воспалительного процесса любой этиологии и локализации являются повреждение и изменение свойств сосудистой стенки в результате первичной альтерации, а также вторичном воздействии медиаторов воспаления. Нарушения структуры и функций сосудов в условиях воспалительного процесса проявляются развитием сложного синдрома эндотелиальной дисфункции (ЭД) [173-176]. Как известно, основой ЭД является дисбаланс между продукцией вазодилатирующих, вазоконстрикторных, ангиопротективных, протромботических, антипролиферативных и пролиферативных факторов (NO, простаглицлин (Pgl<sub>2</sub>), тканевой активатор плазминогена натрийуретические пептиды, эндотелин (END), тромбоксан A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), ингибитор тканевого активатора плазминогена) [177-179]. Каскад сосудистых реакций в очаге воспаления начинается с активации эндотелия, в которой участвуют провоспалительные цитокины и биологически активные вещества. После краткой вазоконстрикции, в развитии которой важную роль играет TxA<sub>2</sub>, образующийся тромбоцитами, наступает дилатация сосудов, вызываемая в основном оксидом азота [180, 181]. Оксид азота образуется из L-аргинина под воздействием NO-синтазы в ответ на стимуляцию эндотелия цитокинами IL-1,-2,-4, -6, TNF-α и IFN-γ, а также фактором активации тромбоцитов (PAF) и брадикинином [182, 183]. В то же время NO обладает свойствами дезагреганта, активатора фибринолиза и на начальных этапах воспаления препятствует сладжированию эритроцитов и внутрисосудистому свертыванию крови [184]. В дальнейшем повреждение сосудистого эндотелия в условиях воспалительного процесса приводит к снижению продукции NO за счет недостатка тетрагидробиоптерина и нарушения активности NO-синтаз. Вместо окисления аргинина эти ферменты восстанавливают молекулярный кислород до супероксид-анион-радикала, что чревато усилением агрегации тромбоцитов и возможностью формирования тромбов [183, 185]. Регуляторные эффекты оксида азота обусловлены также его способностью оказывать влияние на микрореологические свойства эритроцитов и реологические свойства крови. При дисфункции эндотелия уменьшается синтез NO и Pgl<sub>2</sub>, одновременно повышается образование vWF и TxA<sub>2</sub>, что является еще одним из основных механизмов, приводящих к уси-

лению адгезии и агрегации тромбоцитов [186, 187]. Эндотелиальная дисфункция сопровождается усилением синтеза END-1 и повышением его концентрации в плазме крови, что приводит к вазоконстрикции и соответствующим изменениям системного и локального кровотока [188, 189]. При торможении фибринолитической активности, связанной с повышением концентрации ингибиторов фибринолиза, главным образом PAI-1, создаются благоприятные условия для возникновения тромботических, тромбоэмболических осложнений и ДВС-синдрома [190, 191]. Стимуляция эндотелия сочетается с изменением активности тромбоцитов, которое сопровождается перемещением отрицательно заряженных фосфолипидов из внутреннего слоя мембран тромбоцитов, развитием деполяризации, что сопровождается агрегацией тромбоцитов и усилением процесса свертывания крови. На поверхности отрицательно заряженных фосфолипидов появляются адгезивные молекулы и интегрин, способствующие прикреплению лейкоцитов к эндотелию и переходу их в воспалительный очаг. Активация эндотелия и экспрессия адгезивных молекул в очаге острого воспаления происходит очень быстро и продолжается на протяжении нескольких суток [192]. Отрицательно заряженные фосфолипиды блокируются в условиях нормы протеинами с высокой аминокислотной гомологией, которые получили название аннексыны, среди них аннексин V. Аннексыны препятствуют образованию теназного и протромбиназного комплексов. При патологии появляются антитела к аннексину V, благодаря чему возникает предрасположенность к тромбообразованию. Поперечное перемещение фосфолипидов в цитоплазматических мембранах клеток и кровяных пластинок сопровождается везикуляцией мембран. Образование эндотелиальных микровезикул, стимулирующих активацию и экспрессию ТФ усиливается под влиянием PAI-I, выделяющегося при воспалении [193, 194]. Везикулы, отделяющиеся от эндотелиоцитов, моноцитов и макрофагов несут на своей поверхности не только отрицательно заряженные молекулы фосфатидилсерина, но и антигены ТФ. В крови увеличивается содержание микровезикул, несущих на своей поверхности ТФ [194]. Микровезикулы из тромбоцитов при контакте с эндотелиальными клетками способствуют образованию ТхА2, усиливающего агрегацию кровяных пластинок. Кроме микровезикул при активации клеток появляются также

экзосомы размером 0,03-0,1 мкм, которые участвуют в представлении антигенов лимфоцитам и уничтожении клеток-мишеней. Эти микропузырьки имеют меньший прокоагулянтный потенциал, чем микровезикулы [195]. Повышение проницаемости эндотелия приводит к усилению экспрессии ТФ, активирующего факторы VIIa, Ха на отрицательно заряженных фосфолипидах, которые переводят протромбин в тромбин в комплексе с фактором Va и ионами Ca<sup>2+</sup>. При повреждении эндотелия активируются контактные факторы свёртывания крови XIIa и XIa, вовлекающие в реакцию калликреин-кининовую систему с образованием брадикинина. Из стимулированного эндотелия выделяется t-PA, способствующий синтезу плазмينا и растворению фибриновых сгустков. При дисфункции эндотелия нарушается синтез факторов, влияющих на ангиогенез, пролиферацию и миграцию клеток из сосудистого русла. Дисфункция эндотелия сопровождается снижением в крови числа предшественников эндотелиальных клеток, но повышением количества клеток слушенного эндотелия [196, 197]. На локальном и системном уровнях взаимодействие клеток при воспалительном процессе во многом опосредуется цитокинами. В частности, активированные клетки Лангерганса и другие макрофаги синтезируют и секретируют IL-1, -6, -8, -11, -12, -18, TNF- $\alpha$ , содержание которых резко возрастает не только местно, но и в системном кровотоке [198]. Значительная активация эндотелия, макрофагов, моноцитов, экспрессирующих факторы, влияющие на процессы гемостаза и фибринолиза, в частности фактор фон Виллебранда (vWF), ТФ, активаторы и ингибиторы фибринолиза, во многом опосредуется изменениями цитокинового статуса [199]. Поэтому в качестве потенциальных маркеров ЭД можно рассматривать цитокины IL-1, -6, -8, TNF- $\alpha$ , а также vWF, селектины, CRP и другие факторы, по продукции которых можно опосредованно судить о функциональном состоянии эндотелия [200, 201].

Большинство провоспалительных цитокинов оказывают существенное влияние на центральную гемодинамику, регионарный кровоток и микроциркуляцию, структурные и функциональные свойства стенок сосудов, их реактивность, проницаемость, состояние эндотелия сосудов, сосудисто-тромбоцитарный, коагуляционный механизмы гемостаза и активность фибринолиза [202-205].

Указанные изменения являются неотъемлемыми компонентами системного воспалительного ответа организма и могут определять характер, динамику, прогноз патологии, риск развития гнойно-деструктивных осложнений [206, 207]. Подобные изменения гомеостаза описаны при сердечно-сосудистых заболеваниях, врожденных и приобретенных тромбофилиях, сахарном диабете 1 и 2 типов, коллагенозах, инфекционных, онкологических заболеваниях, лейкозах, ожогах, отморожениях, травмах, тяжелых оперативных вмешательствах и др. [208]. IL-1 $\beta$  ингибирует образование дезинтегрина, металлопротеиназы эндотелиальными клетками и гепатоцитами, увеличивает содержание стимуляторов агрегации, прокоагулянтов, ингибиторов фибринолиза, в частности vWF и фактора активации тромбоцитов (PAF) [209, 210]. Цитокины IL-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  активируют процесс свертывания крови, стимулируя экспрессию тканевого фактора на эндотелио- и моноцитах, препятствуя образованию тромбомодулина, уменьшая активирующие влияния на протеин С [211].

В литературе существуют данные том, что в опытах *in vitro* в первые часы после воздействия IL-1 на лимфоциты происходит выход в окружающую среду естественных антикоагулянтов и активаторов плазминогена, блокирующих адгезию и агрегацию тромбоцитов. Однако, через 24 часа под влиянием IL-1 возникают прямо противоположные изменения: в культуральную среду выделяются стимуляторы агрегации, прокоагулянты и ингибиторы фибринолиза. При инкубации с эндотелиальными клетками IL-1 способствует секреции vWF и PAF, что сопровождается резким усилением агрегации тромбоцитов [212]. Стимулируя эндотелиоциты, моноциты и макрофаги, IL-1 приводит к экспрессии TF на эндотелиоцитах и моноцитах. Активированные моноциты способствуют образованию тромбина независимо от наличия TF и фактора VIIa за счет взаимодействия с активированным фактором Xa, поскольку активация моноцитов сопровождается экспрессией на их поверхности адгезивных молекул семейства  $\beta$ 2-интегринов, способных связывать фактор X. Из активированных моноцитов освобождается катепсин G, который вызывает ограниченный протеолиз иммобилизованного на мембране фактора X с образованием фактора Xa, переводящего протромбин в тромбин в комплексе с фактором Va. Кроме того, IL-1 уменьшает способность эндоте-

лиальных клеток активировать протеин С за счет уменьшения на их поверхности числа мест связывания протеина S, что препятствует образованию тромбомодулина.

Установлено, что провоспалительные цитокины, в том числе IL-1, ингибируют образование ADAMTS-13 эндотелиальными клетками и гепатоцитами. При развитии воспаления IL-1 и TNF- $\alpha$  поддерживают процессы активации калликреина, комплемента и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Образующийся при этом ангиотензин-II обеспечивает сосудосуживающие эффекты, а также выброс из моноцитов, макрофагов и эндотелиальных клеток ингибитора активатора плазминогена, TF, что сопровождается агрегацией тромбоцитов и торможением фибринолиза. Кроме того, эндотелиоциты усиленно продуцируют vWF под воздействием IL-1 и TNF- $\alpha$ , что приводит к значительному усилению адгезии и агрегации тромбоцитов. В то же время TNF- $\alpha$  значительно усиливает процесс свертывания крови, способствуя экспрессии TF при разрушении клеток.

Среди разнонаправленных эффектов провоспалительных цитокинов преобладает способность тормозить фибринолиз, усиливать синтез и секрецию ингибиторов фибринолиза эндотелиоцитами, лейкоцитами и другими клетками [213, 214]. Активация фибринолиза противовоспалительными цитокинами (IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  и др.) обеспечивается выделением тканевого и урокиназного активаторов плазминогена и уменьшением секреции ингибиторов фибринолитической активности.

При развитии воспалительного процесса осуществляется взаимодействие эндотелия не только с тромбоцитами, лейкоцитами, факторами свёртывающей системы крови, фибринолиза, но и компонентами калликреин-кининовой, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и системы комплемента. Включение калликреин-кининовой системы приводит к активации комплемента, способствует усилению кровообращения в зоне воспаления и стимуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Благодаря действию калликреина происходит высвобождение ренина из связи с протеином, а также ангиотензин-I-превращающего фактора (АПФ), который способствует переходу ангиотензина-I в ангиотензин-II, а также разрушению брадикинина. Установлено, что АПФ и ангиотензин-II рецептируются фибробластами,

лимфоцитами, макрофагами и моноцитами, стимулируют иммунный ответ и реакции неспецифической резистентности, усиливают репаративные процессы в зоне воспаления. Одновременно ангиотензин-II стимулирует экспрессию эндотелием TF, выделение PAI и усиливает агрегацию тромбоцитов. Помимо этого, под воздействием ангиотензина-II происходит выброс PAI-I из моноцитов, макрофагов и эндотелиальных клеток, что сопровождается торможением фибринолиза. В процессе воспаления в тканях и системном кровотоке образуются иммунные комплексы, стимулирующие классический путь активации комплемента. Одновременно тромбин и плазмин активируют комплемент по альтернативному пути. Активация системы комплемента, сочетающаяся с одновременным увеличением концентрации IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , приводит к значительному повреждению тканей, гемокоагуляции [215].

Таким образом, ЭД, сдвиги коагуляционного потенциала крови, нарушения активности системы фибринолиза занимают важное место в патогенезе ответа острой фазы при воспалении, оказывая влияние на развитие, продолжительность, исход воспалительного процесса, а также прогноз формирования осложнений.

## **2.2 Иммунопатогенез миомы матки**

Среди различных теорий происхождения миомы матки наиболее распространенными являются мезенхимальная, инфекционная, гормональная, генетическая, иммунологическая. В настоящее время в качестве ведущих причин дискутируются две основные теории. Первая из них опирается на возможность онтогенетического дефекта клеток ещё на этапе закладки матки формируются зачатки миоматозных узлов. Вторая теория указывает на приобретённое клеточное повреждение уже во взрослом возрасте женщины [216, 217]. Морфогенез миомы матки предполагает три стадии:

1 стадия: формирование развивающейся зоны роста (зачатка) в ткани миометрия рядом с микроциркуляторным руслом. Такая зона характеризуется интенсивным метаболизмом и повышенной проницаемостью сосудисто-тканевого барьера.

2 стадия: пролиферация ткани без признаков дифференцировки.

3 стадия: развитие опухоли с созреванием тканей и дифференцировкой.

Миома матки - это полиэтиологичное заболевание, в основе патогенеза которого лежит суммарный эффект внутренних (в том числе генных) и внешних (средовых) факторов [218]. Половые гормоны играют большую роль в возникновении и развитии миоматозных узлов. Морфологические изменения миометрия являются следствием дисрегуляции процессов выведения и метаболизма функционирования эстрогенов, пропорционального дисбаланса их фракций. В ходе секреторной фазы прогестерон влияет на активность клеток миомы, стимулируя в них митоз, и способствует продукции ростовых факторов. Кроме того, состояние рецепторного механизма клеток определяет развитие и интенсивность роста миомы. В отличие от интактного миометрия в её тканях, эстрадиол и прогестерон имеют гораздо большее количество рецептивных возможностей, что в свою очередь определяется циклическими изменениями. Среди внутренних факторов риска развития миомы матки важно отметить влияние таких, как более поздние и обильные менструации, высокая частота медицинских аборт, другие экстрагенитальные и гинекологические заболевания [219, 220].

Среди генов с повышенной экспрессией выделяются гены, кодирующие синтез факторов роста, в том числе инсулиноподобный фактор роста (ИПФР-II). Среди генов с пониженной экспрессией среди прочих отмечают ген, кодирующий белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста (ИПФР-VR6 и др.) и гены, обеспечивающие клеточную адгезию (дерматопозтин и др.). В тканях миомы обнаруживаются не только ряд факторов (эпидермальный фактор роста (ЭФР), инсулиноподобный фактор роста-1 (ИПФР-1) и фактор роста тромбоцитов (ФРТ)), но и рецепторы к ним. Наивысшую пролиферативную активность они проявляют в присутствии прогестерона. Было доказано, что повышенное содержание факторов роста и их рецепторов в миоматозной матке, приводит к возникновению патологических кровотечений. Основную роль в этом процессе играют фактор роста фибробластов, сосудистый эндотелиальный фактор роста, трансформирующий бета-фактор роста, паратиреоидный гормоноподобный протеин и пролактин [221].

### *Эпидермальный фактор роста (ЭФР)*

Клетки миомы матки и миометрия экспрессируют м-РНК ЭФР и рецепторы с высокой степенью сродства к ЭФР, что является показателем вовлеченности ЭФР в процесс аутокринно-паракринной регуляции роста данной опухоли. В ходе гистохимического исследования клеток миометрия установлено, что действие эстрадиола регулируется ЭФР, и он способен, подобно эстрадиолу, проявлять стимулирующее клеточный рост действие в органах женской половой системы [222]. В клетках миометрия обнаружены как биологически активный ЭФР, так и его мРНК. Отмечено, что в лютеиновую фазу его значения в клетках миомы матки достоверно выше, нежели в окружающих миоматозный узел интактных тканях. Вовлеченность половых гормонов в процесс регуляции 19 действия ЭФР стала очевидной в процессе изучения патогенетического действия агонистов ГнРГ, после курса терапии которыми, было отмечено не только достоверное снижение интенсивности связывания ЭФР, но и фактической концентрации м-РНК ЭФР в клетках миомы по сравнению с неизмененным миометрием [223]. В культуре миоматозных клеток *in vitro* эстрогены тормозят синтезирование ЭФР, а прогестерон оказывает обратное воздействие. Эстрогены же стимулируют развитие рецепторов к ЭФР в клетках фибромиомы. Таким образом, одновременное действие эстрогенов и прогестерона выражается в пролиферативном эффекте на миому матки через индуктивный эффект на ЭФР и экспрессию рецепторов к ЭФР в данной опухоли.

### *Инсулиноподобный фактор роста (ИПФР)*

Результаты фундаментальных исследований показывают, что инсулиноподобный фактор роста может быть выражен двумя фракциями: ИПФР-I и ИПФР-II. Это полипептид, аналогичный по своей структуре предшественнику инсулина [224], определяет биологические эффекты СТГ разнообразных типов клеточных культур. ИПФР – один из ведущих стимулятором продукции белков, регулирующих механизмы роста клетки и её дифференцировку. Все эти функции ИПФР осуществляет через рецепторы к ИПФР-I и ИПФР-II [224]. В отличие от здоровых клеток, клетки миомы содержат большое количество исключительно рецепторов ИПФР первого типа. На м-РНК клеток лейомиомы рецепторов обоих видов менструальный цикл влияние не оказывает. В литера-

туре описано 6 белков, связывающих ИПФР, посредством которых и реализует свое действие ИПФР - II. ИПФР-связывающие белки характеризуются одинаковой степенью родства с обеими фракциями ИПФР. Кроме того, эти белки регулируют взаимодействие обеих фракций ИПФР с рецепторами, что выражается либо ингибированием действия ИПФР путем блокирования его взаимодействия с рецептором, либо, наоборот, путем 20 стимулирования действия за счет облегчения его взаимодействия с рецептором. м - РНК ИПФР - связывающих белков 2, -3, -4 и -5 обнаруживаются в клетках лейомиомы и миометрия [225]. В наибольшей концентрации в клетках лейомиомы обнаруживается м - РНК ИПФР - связывающих белков 4, далее в порядке убывания: -3, -5, -2. ИПФР - связывающие белки 1 и -6 в лейомиоме практически не определяемы. Особый интерес представляет ИПФР - связывающий белок 6 в связи с тем, что его аффинитет к ИПФР - II в 20 - 100 раз выше, чем к ИПФР - I. Это может служить доказательством того, что именно посредством этого белка ИПФР - II реализует свою функцию. Дисрегуляция ИПФР - связывающего белка 6 приводит к снижению биодоступности ИПФР - II, в результате чего происходит активация его синтеза в клетках миомы, что стимулирует рост опухоли [226]. Несмотря на существующую гипотезу влияния ИПФР - связывающих белков на патогенез роста миомы матки, механизм данного процесса до конца не изучен. Трансформирующий фактор роста -  $\beta$  (ТФР-  $\beta$ ). Результаты цитогенетических исследований показали, что экспрессия ТФР- $\beta$  в клетках миомы в 3,5-5 раз выше по сравнению с нормальным миометрием [227, 228]. Выявленная активация ТФР- $\beta$  происходит в результате снижения синтеза протеогликана дерматопоэтина [229]. Протеогликаны являются составляющими экстрацеллюлярного матрикса, который играет немаловажную роль в патофизиологии миомы матки. Рецептор гормона роста также выявляется в миоме и окружающем миометрии.

#### *Фактор роста фибробластов (ФРФ)*

Фактор роста фибробластов  $\beta$  ( $\beta$ -ФРФ) стимулирует процессы пролиферации и дифференцировки самых различных клеток, включая фибробласты и гладкомышечные клетки. Рецепторы к  $\beta$ -ФРФ также обнаружены и в клетках фибромиомы и нормального миометрия. Однако установлено, что  $\beta$ -ФРФ оказывает менее вы-

раженное влияние на процессы пролиферации и дифференцировки клеток миомы матки по сравнению с интактной мышечной тканью матки [230]. Таким образом, высказывается предположение, что  $\beta$ -ФРФ вряд ли играет значимую роль в процессе роста миомы матки. К внешним факторам риска развития миомы матки можно отнести такие как химические, физические воздействия и наличие сопутствующих инфекционных заболеваний. Так, в исследованиях Басиной Е.И. (2014) было показано, что хронические урогенитальные инфекции у пациенток с миомой матки, требующих хирургического лечения, отмечаются в 66,3% случаев [231]. се они характеризуются общим неспецифическим механизмом воздействия на систему организма - гипоталамус - гипофиз - яичники - матка [232].

В становлении патологических процессов важную роль играет иммунная система, отвечающая за пролиферативные реакции и механизм апоптоза клеток [233]. У молодых женщин с миомой матки наблюдается снижение иммунорегуляторного индекса за счет фракции  $CD4^+$  - Т - лимфоцитов, что, в свою очередь, свидетельствует о дисбалансе двух важнейших субпопуляций Т-лимфоцитов:  $CD4^+$  - и  $CD8^+$  - Т- лимфоцитов. Отмечено снижение показателей  $CD3^+$  - Т-лимфоцитов и их активированной фракции. При миоме матки подобная динамика составляющих иммунной системы свидетельствует об угнетении клеточного иммунитета, что повышает риск развития аутоиммунных реакций и ослабляет контроль за процессом пролиферации клеток. Отмечено, что после операции у пациенток наблюдалась постепенная нормализация процентного содержания  $CD4^+$  - Т-лимфоцитов [218]. Одним из механизмов развития опухоли является недостаточность активности фагоцитарной системы иммунитета, обеспечивающей как продукцию цитокинов, так и пролиферирующих клеточных элементов за счет фагоцитоза.

Иучалось состояние иммунной системы у женщин с миомой матки в двух случаях: тех, кому терапия не проводилась, и тех, кому было проведено хирургическое вмешательство (гистерэктомия или эмболизация маточных артерий). Было выявлено статистически значимое уменьшение величины значений ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ,  $\gamma$ -ИНФ и снижение соотношения  $\gamma$ - ИНФ/ИЛ-4 в сыворотке крови, что может свидетельствовать о преимуще-

ственной редукции Th-1 лимфоцитов по сравнению с Th-2 клетками – это в свою очередь, говорит о преимущественном подавлении клеточного иммунного ответа у пациенток с миоимой матки. После хирургического лечения миомы матки происходит окклюзия маточных сосудов, в результате чего снижается кровоснабжение в узлах миомы, что, в свою очередь, запускает компенсаторную воспалительную реакцию, в результате чего стимулируется Th1-клеточный иммунный ответ. Это в свою очередь приводит к возрастанию концентрации  $\gamma$ -ИНФ, что влечет за собой повышение и других провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-6), а также маркера апоптоза Fas-L. Это предотвращает пролиферацию мышечных клеток и способствует регрессу патологического процесса. Более значительные изменения цитокинового профиля, отмечающиеся у больных после гистерэктомии связано, по мнению авторов исследования, с тяжестью хирургической агрессии [234]. Можно заключить, что у женщин с миомой матки в молодом возрасте отмечаются изменения в системе иммунитета, которые нормализуются после адекватно проведенного хирургического лечения.

Эндокринная и иммунная системы являются основными регуляторами пролиферации и апоптоза клеток в организме [235]. Полагают, что очаговая гиперплазия миометрия может возникнуть в результате нарушения баланса процессов пролиферации и апоптоза в миометрии. В качестве подтверждения этого предположения являются полученные в ряде исследований данные, показывающие, что в лейомиоме наблюдается повышенная экспрессия ингибитора апоптоза - протоонкогена Bcl-2 и регулятора клеточной пролиферации - Ki-67 [236].

Из-за неспособности к апоптозу в силу дисрегуляции иммуносупрессивных механизмов патологический опухолевый рост прогрессирует. Так, в некоторых отдельных работах показано уменьшение показателя апоптоза Fas-L, что может свидетельствовать о снижении цитотоксического киллинга, осуществляемого T- и NK-клетками при миоме, тем самым способствуя прогрессированию заболевания [237]. Выраженные нарушения иммунного статуса, редукция функции Th1- и Th2-лимфоцитов и, как следствие, значительное угнетение апоптоза при миоме матки способствуют дальнейшему росту опухоли и прогрессированию заболевания.

Рядом исследователей были получены данные, свидетельствующие о значительном влиянии гормонов на функционирование иммунной системы. В частности, определена возможность эстрогенов подавлять иммунный ответ Т-лимфоцитов на действие фитогемагглютинина, а также активность фагоцитоза, синтез Т-хелперов и продукцию IgM. Такая реакция опосредованно выступает антагонистом противоопухолевой защиты, способствуя дальнейшему патологическому развитию лейомиомы [238]. Было показано, что эстрадиол стимулирует синтез кортикостероидов, являющихся иммунодепрессантами, что угнетающе действует на синтез Т-хелперов и продукцию иммуноглобулинов класса М.

В связи с этим очевидна значительная роль относительной и абсолютной гиперэстрогении, обнаруживаемой у пациенток с миомой матки. Так, эстрогены за счет снижения активности естественных киллеров и содержания Т-хелперов с одновременным повышением содержания иммунодепрессантов (кортикостероидов), способствуют снижению эффективности системы противоопухолевой защиты организма. В связи с этим происходит прогрессивное развитие миомы матки.

При длительном и отягощенном течении миомы матки изменения в системе местного и общего иммунитета наиболее выражены. При изучении состояния гуморального иммунитета при миоме матки ряд исследователей выявили увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов класса G, что может говорить об активации гуморальных иммунных реакций [239, 240].

В последние годы особое внимание уделяется изучению особенностей иммунологических показателей при быстрорастущей миоме матки. Согласно морфологической классификации, выделяют два вида ускоренного роста и развития миомы матки: «истинный» (в силу разрастания миогенных участков) и «ложный» (из-за отёка подлежащих тканей, изменения кровоснабжения узлов, их дегенеративных изменений [241].

Анализ состояния иммунокомпетентных клеток периферической крови пациенток в зависимости от типа роста миомы матки показал, что иммунологические показатели «истинного» роста миомы матки – это снижение продукции Т-лимфоцитов с цитотоксической активностью (CD3+CD8+ - лимфоцитов) и резкое повыше-

ние CD38<sup>+</sup> - Т-лимфоцитов. На основании проведенных исследований был сделан вывод о том, что увеличение количества CD38<sup>+</sup> - лимфоцитов на системном и локальном уровнях у пациенток с миомой матки – однозначный прекурсор «истинного» типа опухолевого роста [242].

«Ложный» рост миомы матки сопровождался повышенной продукцией естественных киллеров (CD16<sup>+</sup> - лимфоцитов), что может быть связано с наличием воспалительного процесса, сопутствующими вторичными изменениями опухоли. В результате исследований особенностей иммунитета у женщин с быстрым темпом роста миомы матки было получено, что ряд показателей клеточного и гуморального звеньев иммунной системы значительно отличается от таковых у женщин со стабильным темпом роста миомы. Так, у женщин с быстрорастущей миомой матки отмечались повышение уровней ФРФ -  $\beta$ , ТФР -  $\beta$ 2, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ИЛ-12 и гамма - ИФН. В периферической крови данных пациенток отмечалось так же повышение активности регуляторных Т-лимфоцитов и содержания активированных фагоцитов.

В перитонеальной жидкости пациенток данной группы было обнаружено снижение уровней ранне активированных Т-лимфоцитов - хелперов (CD4+CD25<sup>+</sup>) и поздне активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLADR<sup>+</sup>). Выявленное снижение активации Т-лимфоцитов авторы рассматривают в качестве отличительной иммунологической особенности быстрорастущей миомы матки [242]. Этиологическими факторами всецелого проявления миомы матки могут выступать как трофические нарушения, так и дефекты иннервации маточной ткани. Следствием этого становится визуально дифференцируемые патологические изменения гладких мышц.

Таким образом, патогенетически становление миомы матки - процесс достаточно непростой и многофакторный. Он требует дальнейшего исследования, и только научные поиски новых данных могут стать основой принципиально новых способов профилактики и терапии этого состояния.

По данным ряда исследователей, рост уровня аутоантител соответствующей тканевой специфичности носит транзиторный характер и происходит при повышении экстраклеточного содержания любого эндогенного антигена при повреждении ткани. Аналогичный процесс роста уровня аутоантител происходит и при ано-

мальном повышении экспрессии рецепторов [243]. В процессе развития патологического процесса происходит стимуляция апоптоза поврежденных клеток, в связи с чем, по принципу обратной связи, может меняться и интенсивность продукции соответствующих аутоантител.

## 2.3 Иммунопатогенез эндометриоза

Эндометриоз - эстрогензависимое гинекологическое заболевание, встречающееся примерно у 6-10% женщин репродуктивного возраста [244].

Эндометриоз - это процесс, при котором за пределами полости матки происходит доброкачественное разрастание ткани, близкой к эндометрию по морфологическим и функциональным свойствам [245]. Эктопические очаги эндометриоидной ткани могут иметь разнообразную локализацию в брюшной полости: в ретроцервикальном пространстве, на ретровагинальной перегородке, в мочевом пузыре, брюшине, матке, прямой кишке, аппендиксе и яичнике [246].

*Межклеточные соединения и их роль в патогенезе эндометриоза*

Эндометриоз характеризуется ростом эндометриоидной ткани вне полости матки и поражает 10–15% женщин репродуктивного возраста и до 50% женщин, обращающихся за лечением бесплодия. Несмотря на то, что это доброкачественное заболевание эндометрия, оно приводит к серьезным клиническим симптомам.

Одной из причин эктопической колонизации и роста ткани эндометрия может быть несоответствующая дифференцировка клеток эндометрия, приводящая к увеличению адгезивности и инвазивности эндометриоидной ткани. Это нарушение дифференцировки может повлиять на переход от эпителия к мезенхиме или от мезенхимы к эпителию в ткани эндометрия, что физиологически сопровождается регулируемой экспрессией межклеточных соединительных комплексов. Исследования показывают, что плотные контакты отсутствуют или изменены в эндометриоме по сравнению с эутопическим эндометрием. Описывается значительно низкий синтез клаудина-3 и клаудина-4 при эндометриоме яичников по сравнению с эутопическим эндометрием.

### *Роль E-кадгерина в патогенезе эндометриоза*

Одним из отличительных признаков перехода от эпителия к мезенхиме является функциональная потеря экспрессии E-кадгерина в эпителиальных клетках. Снижение экспрессии E-кадгерина, а также альфа- и бета-катенина наблюдается при перитонеальном и яичниковом эндометриозе по сравнению с эутопическим эндометрием.

Исследования показывают, что количество E-кадгерин-отрицательных эпителиальных клеток было увеличено при перитонеальном эндометриозе по сравнению с эутопическим эндометрием и что такие клетки демонстрировали инвазивный рост.

Таким образом, нарушение экспрессии E-кадгерина может составлять решающий механизм в патогенезе эндометриоза за счет увеличения инвазивности эндометриоидных клеток.

### *Роль коннексинов Cx26, Cx32 и Cx43 в патогенезе эндометриоза*

Неправильная дифференцировка ткани эндометрия у пациентов с эндометриозом коррелирует с aberrантной экспрессией коннексинов щелевого соединения. В эутопической эндометрии женщин с эндометриозом наблюдается значительное снижение синтеза Cx43, что коррелирует с уменьшением физиологического межклеточного взаимодействия. Параллельно в этих клетках нарушалась децидуализация, что подтверждает роль нарушенной децидуализации в патогенезе эндометриоза. Aberrантное распределение белков коннексина также описано при эктопических поражениях эндометрия. Синтез белка Cx43 увеличивается в эндометриоидных тканях, синтез белка Cx26 значительно снижается, а Cx32 не обнаруживается. При эндометриоидных поражениях белок Cx43, который в норме экспрессируется в стромальных клетках эндометрия, не синтезируется.

Изменения в межклеточном взаимодействии могут вносить вклад в изменение программы дифференцировки как эпителиального, так и стромального компартмента эндометрия. Изменение синтеза различных соединительных белков может поддерживать инвазивные свойства эндометриоидной ткани и способствовать ее росту на эктопических локализациях. Такие нарушения могут способствовать развитию бесплодия.

### *Современные исследования биомаркеров эндометриоза*

Одним из первых в качестве диагностического маркера рассматривался гликопротеин СА-125. Однако определение данного гликопротеина имеет низкую специфичность, поскольку изменение его содержания наблюдалось при неэндометриозидных кистах яичника и онкологических заболеваниях репродуктивных органов [247]. Интерес к проблеме поиска в образцах крови, мочи и эндометрии пациенток специфических молекулярных маркеров, ассоциированных с эндометриозом, сохраняется до сих пор, о чем свидетельствуют проводимые в ряде исследовательских лабораторий работы. На данном этапе рассматривается широкий спектр представителей различных классов молекул: гликопротеины, цитокины, нейрональные белки, факторы роста, метаболиты, кодирующие и некодирующие РНК-транскрипты (мРНК, микроРНК) [247-251]. В литературе описано более 120 потенциальных молекулярных маркеров, изменение содержания которых обнаружено в тканях и биологических средах при эндометриозе. Тем не менее необходимы дальнейшие исследования для применения этих данных с целью создания эффективного диагностического теста.

#### *Биомаркеры эндометриоза в крови*

Гликопротеин СА-125 продуцируется клетками эндометрия и мезотелиальными клетками и попадает в кровоток через эндотелиальную оболочку капилляров в ответ на воспаление. Концентрация СА-125 повышается преимущественно в крови женщин на поздних стадиях заболевания, на ранних же стадиях уровень СА-125 зачастую остается в пределах нормальных значений. Однако показано, что изменение содержания в периферической крови данного гликопротеина наблюдалось у здоровых женщин во время менструации, при воспалительных процессах в придатках, неэндометриозидных кистах яичника и онкологических заболеваниях репродуктивных органов [252]. Помимо определения уровня СА-125, проводились исследования комбинации маркеров, в состав которой также входил данный онкомаркер. Так, в исследовании, включающем 28 кандидатных маркеров, проведен многофакторный анализ содержания в плазме крови таких соединений, как аннексин V, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), СА-125, растворимая форма молекулы межклеточной адгезии 1-го типа (sICAM-1), гликоделин-А и нейрональный белок гамма-синуклеин. Результаты

исследования позволили подтвердить предварительно установленный на основании показателей маркеров диагноз эндометриоза с помощью УЗИ (с чувствительностью от 81 до 90% и специфичностью от 63 до 81%); у женщин группы контроля отсутствие эндометриоза по данным маркеров подтверждено с помощью лапароскопии [252]. Однако эти данные требуют дополнительной валидации, и результаты исследования до сих пор не внедрены в практику. Исследовали также онкомаркеры СА-19-9, СА-15-3 и СА-72, которые показали более низкую специфичность при диагностике эндометриоза по сравнению с СА-125. В качестве маркеров предлагались и другие гликопротеины плазмы крови. Показано, что уровень гликоделина-А повышается в крови у пациентов с эндометриозными кистами яичника и больных эндометриозом III—IV стадии [252]. Считается, что гликоделин - белок, идентифицированный в эндометрии, обладающий ангиогенным, иммуносупрессивным и контрацептивным эффектом, может способствовать развитию эндометриоза и связанного с ним бесплодия. Кроме того, гликоделин не только продуцируется и секретируется клетками железистого эпителия эндометрия, но и выделяется эндометриозными гетеротопиями в перитонеальную жидкость и кровь [252].

Аннексин V является маркером апоптоза, и, по мнению ряда авторов, может служить достоверным маркером для диагностики минимальной и умеренной стадий эндометриоза. Действительно, нарушения в регуляции апоптоза в эутопическом и эктопическом эндометрии у женщин с эндометриозом могут способствовать выживанию клеток эндометрия в брюшной полости и развитию очагов эндометриоза. Аннексин V включен в группу достоверных маркеров при проведении неинвазивного теста для диагностики эндометриоза [253]. Молекулы межклеточной адгезии интегрального мембранного белка (ICAM) регулируют межклеточные взаимодействия и обеспечивают адгезию и инвазию клеток эндометрия в местах их новой локализации, повышение экспрессии белков или ICAM зафиксировано в клетках эктопического эндометрия [248]. В крови больных эндометриозом отмечалось изменение содержания ICAM-1, однако рядом авторов получены противоречивые данные относительно зависимости его содержания от стадии заболевания. Тем не менее в исследовании ICAM-1 включен в панель маркеров [249]. В качестве возможного маркера рассматривали sICAM-1,

которая, как известно, ингибирует цитотоксичность, вызванную клетками — естественными киллерами (клетки НК), приводит к дефектному иммунному ответу, участвует в имплантации и развитии эндометриoidных гетеротопий. На сегодняшний день существуют противоречивые данные о диагностической ценности данной молекулы: одни исследования показали увеличение, а другие — снижение уровня sICAM-1 (в плазме/сыворотке крови) у женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами контрольной группы. Важную роль в ремоделинге межклеточного матрикса играют матриксные металлопротеиназы (ММР). В ряде работ отмечено повышение уровня металлопротеиназ ММР-2 и ММР-9 в крови больных эндометриозом, а также повышение уровня микроРНК (мкРНК) ММР-3 [250]. В системе регуляции ангиогенеза ключевым компонентом является VEGF, кроме того, этот фактор способствует развитию эндометриoidных гетеротопий [254]. Определение уровня VEGF в периферической крови показало либо его увеличение при эндометриозе [256], либо отсутствие изменений [257].

В качестве потенциальных маркеров рассматривались пролактин, эстроген, прогестерон, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны. Установлены характерные изменения уровня этих гормонов в крови пациенток с эндометриозом [258]. Несмотря на высокую специфичность при сравнительном анализе исследуемых групп, полученные данные демонстрировали низкую чувствительность, в связи с чем в настоящее время не рекомендуется проводить исследования гормонов с целью диагностики эндометриоза. Ранние исследования клеточного состава эндометриoidных гетеротопий выявили высокое содержание иммунокомпетентных клеток: активированных макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, что позволило высказать гипотезу об иммунологическом факторе в этиологии эндометриоза. В связи с этим разнообразными иммунорегуляторными молекулами, такие как IL-1, IL-6, IL-8, фактор некроза опухоли (TNF), хемокин CCL-2 и интерферон-гамма рассматривались в качестве возможных маркеров. По данным одних авторов, измерение цитокинов в плазме с высокой чувствительностью и специфичностью (95%) выявляет эндометриоз у пациенток с нормальными результатами УЗИ органов малого таза. Однако в других исследованиях подтвердить эти данные не удалось [258-261].

Кроме цитокинов, изучались также компоненты системы комплемента и хемокины. Установлено повышение уровня белков системы комплемента С3с, С4 и протеинового комплекса SC5b-9 в перитонеальной жидкости и крови женщин, больных эндометриозом. Хемокины представляют собой семейство белков, высвобождаемых лимфоцитами и способных индуцировать хемотаксис иммунокомпетентных клеток [262]. В ряде работ отмечено достоверное повышение уровня хемокина CXCL8 у пациенток с эндометриозами. Получены также данные о выраженном увеличении концентрации IL-8, хемокинов MCP-1 и RANTES у больных эндометриозом на 46, 50 и 75% соответственно по сравнению с пациентками контрольной группы [259].

В последнее время активно развивается направление исследований, связанное с изучением роли мкРНК в патогенезе различных заболеваний, а также их диагностического потенциала. Эндометриоз является многофакторным и полигенным заболеванием, результаты последних исследований указывают на то, что в патогенезе эндометриоза важную роль может играть дисрегуляция экспрессии мкРНК, которые обладают способностью контролировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Синтез мкРНК происходит за счет транскрипции определенных участков генома, в результате чего образуются мкРНК-предшественники, которые после процессинга трансформируются в зрелые формы, имеющие длину 18-24 нуклеотида [263].

Биологическая роль мкРНК заключается в регуляции экспрессии генов на уровне трансляции за счет взаимодействия с транскриптами матричной РНК, в результате которого происходит остановка синтеза соответствующих белков. Работами последних лет установлено, что мкРНК принимают участие практически во всех аспектах жизнедеятельности клетки. Поэтому нарушения экспрессии мкРНК могут приводить к изменению экспрессии регулируемых ими белков и последующему нарушению клеточных функций.

В связи с этим изучение экспрессии мкРНК при эндометриозе является перспективным подходом для выявления патогенетических механизмов данного заболевания. МкРНК могут секретироваться в кровь в составе различных микровезикул, в частности экзосом, которые защищают их от действия нуклеаз, что обеспечи-

вает их стабильность в кровотоке. Секретируемые мкРНК можно рассматривать в качестве диагностических маркеров. Сравнительный анализ состава мкРНК в эктопическом и эутопическом эндометрии выявил значительные отличия их экспрессии в исследуемых тканях. Обнаружено повышение уровня экспрессии miR-17-5p, miR-23a/b, miR-542-3p; miR-9, miR-34 и miR-21 в эутопическом эндометрии у пациенток с эндометриозом по сравнению с пациентками группы контроля [264-266]. Установлено повышение экспрессии miR-135b в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с женщинами группы контроля в пролиферативной и секреторной фазах менструального цикла [267].

Полученные данные указывают на весомый вклад эпигенетической регуляции мкРНК в патогенетических процессах, ассоциированных с эндометриозом. Диагностический потенциал мкРНК оценивали разные исследователи при проведении анализа содержания мкРНК в периферической крови больных эндометриозом.

Так в работе S. Jia и соавт. проведено сравнительное исследование содержания мкРНК в плазме крови больных эндометриозом с использованием технологии гибридизации на чипах. Авторы выявили 27 мкРНК с различным направлением изменений у пациентов сравниваемых групп. Для валидации данных, полученных на 1-м этапе, отобраны 6 мкРНК (miR-15b-5p, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-22, miR-26a). Из них уровни 3 мкРНК (miR-17-5p, miR-20a и miR-22) существенно снижались у больных эндометриозом; различия с показателями у пациентов группы сравнения были статистически значимыми [267].

S. Suryawanshi и соавт. провели анализ экспрессии 1113 мкРНК в 20 образцах плазмы женщин здоровых ( $n=6$ ), больных эндометриозом ( $n=7$ ) и раком эндометрия ( $n=7$ ) для выявления потенциальных маркеров этих заболеваний. В результате анализа экспрессии выбрано 23 мкРНК, совместное определение 3 мкРНК из них (miR-16, miR-191, miR-195) позволило надежно дифференцировать здоровых женщин и больных эндометриозом (площадь под кривой AUC 0,90) [268]. В еще одной работе исследовали состав мкРНК в образцах сыворотки крови здоровых и больных женщин. В общей сложности профилировано 765 мкРНК. Показано повышение содержания miR-199a и miR-122, а также уменьшение содержания miR-145, miR-141 miR-542-3p и miR-9 у пациен-

ток с эндометриозом. Также авторы отметили, что относительная экспрессия miR-199a и miR-122 в сыворотке крови может быть использована для выявления различий между тяжелыми и легкими формами эндометриоза. Предложено оптимальное сочетание нескольких мкРНК: miR-199a, miR-122, miR-145 и miR-542-3p, которое позволяет с 93,22% чувствительностью и 96% специфичностью определить больных эндометриозом и может служить потенциальным диагностическим маркером заболевания.

Следует отметить, что данные исследования проведены с небольшим числом наблюдений, в связи с чем требуется подтверждение полученных данных на большей выборке. Тем не менее обнаруженные различия обозначили перспективу идентификации мкРНК в крови для диагностики эндометриоза. Приведенные результаты исследований свидетельствуют не только о важной роли мкРНК в патогенезе эндометриоза, но и о потенциальной возможности использовать информацию об их экспрессии для диагностических целей.

#### *Биомаркеры эндометриоза в перитонеальной жидкости.*

Большинство исследований подтверждает, что эндометриоз связан с состоянием бессимптомного, неинфекционного перитонеального воспаления. Проведена оценка концентрации в перитонеальной жидкости у больных эндометриозом белков острой воспалительной фазы: гаптоглобина и церулоплазмينا. В исследовании участвовали 229 женщин, которым выполняли диагностическую или лечебную лапароскопию. Эндометриоз минимальной, легкой, умеренной и тяжелой степени тяжести, согласно классификации Американского общества репродуктивной медицины (ASRM), подтвержден у 119 женщин (группа исследования), тогда как у 110 пациенток групп сравнения установлены простая серозная киста или дермоидная киста яичника.

Концентрация гаптоглобина в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом была значительно выше по сравнению с пациентками с серозными и дермоидными кистами яичников. Более высокий уровень гаптоглобина наблюдался у больных с эндометриозом тяжелой и умеренной степени тяжести по сравнению с женщинами обеих групп сравнения. Различий в содержании церулоплазмينا в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и женщин из контрольной группы не выявлено. Однако

отмечено, что уровень церулоплазмينا выше у пациенток подгруппы с эндометриозом тяжелой степени по сравнению с женщинами контрольных групп и пациенток с заболеванием легкой степени. Данные результаты подтверждают гипотезу о том, что эндометриоз связан с бессимптомным воспалением в брюшной полости. Это может доказать, что провоспалительные стимулы достаточно сильны, чтобы вызвать увеличение концентрации белков в острой фазе воспаления, которое наблюдается только на поздних стадиях болезни [269].

#### *Биомаркеры эндометриоза в моче.*

Поиск биомаркеров эндометриоза проводился и в образцах мочи пациенток. В исследовании В. Yun и соавт. выявлено значительное увеличение концентрации эндолазы 1-го типа (NNE) в моче пациенток с эндометриозом III-IV стадии [270]. Авторы полагают, что использование комбинации показателей уровня данного маркера и уровня СА-125 в крови может эффективно использоваться в ранней диагностике эндометриоза. S. Cho и соавт. выявили повышение уровня белка, связывающего витамин D, в моче пациенток с эндометриозом во время лютеиновой фазы менструального цикла [271]. Однако для более точного определения эффективности маркера необходимо обследовать большее число пациенток и провести оценку данного параметра на протяжении всего менструального цикла. В образцах мочи пациенток с эндометриозом также выявлена повышенная концентрация фрагмента цитокератина 19-го типа (онкомаркер uCYFRA 21-1), однако дальнейшие исследования не выявили связи полученных данных с наличием эндометриоза [272].

#### *Биомаркеры эндометриоза в цервикальной слизи.*

В недавнем исследовании G. Grande и соавт. впервые проведено полное профилирование протеома цервикальной слизи пациенток с эндометриозом, в результате которого описан ряд дифференциально экспрессированных белков [273]. Выявлено, что экспрессия 6 белков, 4 из которых ассоциированы с воспалением, выше у пациенток с эндометриозом и бесплодием, чем у женщин группы контроля. Это следующие белки: полимерный иммуноглобулиновый рецептор (PIGR), нейтрофильный ассоциированный с желатиназой липокалин (NGAL), тканевый ингибитор металлопротеиназ 1-го типа (TIMP1), фибулин 1-го типа (FBLN1),  $\alpha$ 1-

кислый гликопротеин (орозомукоид-A1AG2), белок системы комплемента C3 (CO3). Экспрессия 9 белков (азуроцидин 1-го типа (CAP7), инволюкрин (INVO), альдолаза-A (ALDOA), богатый цистеином секреторный белок 3-го типа (CRISP3), белок теплового шока 1-го типа (HSPB1), гистоны (H2A1H, H2A2C, H2A1B), белок S10A8) наоборот, снижена у пациенток с эндометриозом. Авторы отмечают, что, несмотря на полученные данные, для их валидации необходимо провести более масштабное исследование с качественно отобранными группами сравнения и контроля.

*Биомаркеры эндометриоза в слюне.* Вариантом неинвазивной диагностики является определение биомаркеров в слюне. В исследовании M. Wingeld и соавт. проводили забор проб слюны и определяли уровень прогестерона у пациенток с подтвержденным эндометриозом и бесплодием в фолликулярной и лютеиновой фазах менструального цикла. Обнаружено повышение уровня прогестерона в слюне в 45% случаях. Однако исследование включало только 23 женщины, поэтому для более точного определения эффективности прогестерона в качестве маркера эндометриоза необходимо провести обследование большего числа пациенток на протяжении всех фаз менструального цикла [274].

В работе K. Petrelluzzi и соавт. в качестве потенциального биомаркера эндометриоза в слюне изучали кортизол. Выявлено повышение уровня кортизола у пациенток с эндометриозом, причем данный эффект наблюдался при заборе слюны в утренние часы. Полученные данные позволяют предположить, что определение уровня кортизола в сочетании с анализом изменений других биомаркеров может стать эффективным методом ранней диагностики эндометриоза [275]. Кроме того, получены положительные результаты определения эстрогена в комбинации с уровнем СА-125 в слюне. Повышение обоих биомаркеров отмечается у пациенток с эндометриозом.

*Роль малых некодирующих РНК (мкРНК и мРНК) в развитии эндометриодных гетеротопий*

В последнее время активно изучается роль малых некодирующих РНК в регуляции экспрессии генов как в норме, так и при патологии [276]. Наиболее изученными представителями малых некодирующих РНК являются микроРНК (мкРНК), которые играют роль посттранскрипционных репрессоров за счет взаимодей-

ствия с мишенями матричной РНК (мРНК), что приводит либо к деградации соответствующей мРНК, либо к остановке трансляции [277, 278]. По некоторым оценкам, мкРНК способны регулировать экспрессию более 60% генов, кодирующих белок, и участвуют в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки, воспаления, апоптоза, гемопоза, эмбрионального развития и онкогенеза [279]. МикроРНК могут действовать дистанционно за счет транспорта к клеткам-мишеням в составе микровезикул и экзосом.

Так, например, мкРНК, секретируемые эпителиальными клетками эндометрия, могут иметь большое значение при развитии эндометриоза, поскольку их гены мишени участвуют в формировании клеточных контактов и миграции, а также в сигнальных путях, запускаемых активацией рецепторов ряда факторов роста, что поддерживает процессы пролиферации и выживания клеток эндометрия [280].

Таким образом, изменение экспрессии мкРНК может способствовать как дальнейшему развитию патологического очага, так и вовлечению окружающих тканей в патологический процесс. Поскольку ткани кисты интимно сращены с тканями яичника, можно предположить, что специфические изменения экспрессии генов и мкРНК в тканях кисты могут отражать как течение патологического процесса, так и особенности взаимодействия тканей эктопического эндометрия и тканей яичника.

*Исследование экспрессии мкРНК в тканях эндометрия при низком и нормальном овариальном резерве (ОВР).*

Проведен анализ экспрессии мкРНК в тканях эндометриоидных кист яичника и эутопического эндометрия при низком (L) и нормальном (N) ОВР. Анализ экспрессии мкРНК в эктопическом (EcL) эндометрии кисты относительно эутопического (EuL) при низком ОВР выявил 15 дифференциально экспрессируемых мкРНК (дэ-мкРНК) с пониженной экспрессией в тканях кисты. При сравнении образцов тканей пациенток с нормальным ОВР (EcN-EuN) выявлено 100 дэ-мкРНК, среди которых 66 демонстрировали повышенную, а 34 — сниженную экспрессию в тканях эндометриоидной кисты яичника. Значительные различия в количестве дэмкРНК свидетельствуют о существенном дисбалансе регуляторных процессов в тканях эндометрия при различных типах ОВР.

Пересечение полученных списков дэ-мкРНК при низком и нормальном резерве выявило 3 мкРНК (hsa-miR-129-2-3p, hsa-miR-129-5p, hsamiR-615-3p), характерных только для низкого ОВР, и 12 одинаковых мкРНК: hsa-miR-1-3p, hsa-miR-127-5p, hsa-miR-136-3p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-202-5p, hsa-miR-29b-3p, hsa-miR-29c-3p, hsa-miR-29c-5p, hsamiR-508-3p, hsa-miR-509-3-5p, hsa-miR-514a-3p, hsamiR-708-5p. При этом экспрессия одинаковых для групп сравнения мкРНК имела разнонаправленный характер: снижалась при низком, и повышалась при нормальном ОВР. Данный характер изменений также подтверждается сниженной экспрессией указанных мкРНК в тканях кисты при низком ОВР, что установлено при сравнении экспрессии в эктопическом эндометрии при низком ОВР и нормальном ОВР (EcL-EcN). Показано, что экспрессия всех указанных выше мкРНК значительно снижена в кисте при низком ОВР (EcL). При этом в данном сравнении наблюдалось 50 дэмкРНК с пониженной экспрессией и 14 мкРНК с повышенной экспрессией в тканях кисты при низком ОВР.

При сравнении экспрессии указанных выше мкРНК в эутопическом эндометрии (EuL-EuN) наблюдалось повышение их уровня при низком ОВР. Всего в данном сравнении наблюдалось 36 дэмкРНК с повышенной и 23 с пониженной экспрессией в эутопическом эндометрии при низком ОВР. Таким образом, при сравнительном анализе наблюдаемые различия в экспрессии могут быть одновременно связаны как со снижением экспрессии в эктопическом эндометрии, так и с повышением в эутопическом эндометрии.

Для дэ-мкРНК в тканях эктопического и эутопического эндометрия получены списки валидированных генов-мишеней, которые использовали при обогащении по базам данных молекулярных взаимодействий. Проведенный анализ позволил выявить 24 клеточных процесса и сигнального пути. Особенно заслуживают внимания сигнальные пути, активируемые эстрогенами, фолликулостимулирующим гормоном, лептином, пролактином, тиреотропином и серотонином.

Выделена группа сигнальных путей, регулируемых различными интерлейкинами (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9), которые могут вносить существенный вклад в воспалительные процессы при развитии эндометриодных гетеротопий. Определены

также клеточные процессы, связанные с канцерогенезом, ангиогенезом и дифференцировкой. Особого внимания заслуживает обогащение по сигнальному пути регуляции репарации ДНК с участием мкРНК (miRNAs involved in DDR, DNA damage response). Активация данного сигнального пути может свидетельствовать о повышении уровня повреждений ДНК вследствие развития воспаления и окислительного стресса в тканях эктопического эндометрия. С данными патологическими процессами, по-видимому, связано выявление сигнального пути, ассоциированного с аутофагией и клеточным старением.

*Транскриптомный анализ экспрессии генов в тканях эндометрия.* Для выявления особенностей экспрессии генов проведен транскриптомный анализ в ряде парных образцов эктопический (Ec) - эутопический (Eu) эндометрий, полученных от пациенток с эндометриозом в пролиферативную фазу менструального цикла при низком и нормальном ОВР. Образцы РНК, использованные для оценки экспрессии генов, включали также образцы РНК, полученные для секвенирования мкРНК.

При сравнении эктопического и эутопического эндометрия при нормальном ОВР показана дифференциальная экспрессия 2491 гена, из которых 1363 гена с пониженной и 1128 генов с повышенной экспрессией. При аналогичном сравнении при низком ОВР различия в экспрессии значительно менее выражены: всего выявлено 100 генов, из которых 53 с пониженной и 47 с повышенной экспрессией в тканях кисты.

В эктопическом эндометрии овариальных кист при низком ОВР относительно нормального выявлено 1358 дэ-мРНК: 699 с повышенной и 659 с пониженной экспрессией. Различия между тканями эутопического эндометрия оказались менее выраженными, всего выявлено 56 дифференциально экспрессируемых генов, из которых 35 с пониженной и 21 ген с повышенной экспрессией.

Таким образом, как и в случае с мкРНК, наблюдается выраженное снижение количества дифференциально экспрессированных генов в эктопическом эндометрии относительно эутопического при низком ОВР.

Проведена оценка сигнальных путей по XD-фактору - параметру, оценивающему, насколько выражено участие списка генов в том или ином сигнальном пути, находящемся в сети молекуляр-

ных взаимодействий. Положительные и более высокие значения *XD*-фактора свидетельствуют о более вероятной ассоциации найденных сигнальных путей с выбранной группой генов. На основании значений *XD*-фактора и количества генов в сигнальном пути ( $n > 5$ ) из полученного списка отобрано 72 пути.

Отбор по указанным параметрам выявил биологические сигнальные пути, ассоциированные с опухолевыми процессами, иммунными реакциями, регуляцией клеточного цикла, дифференцировки, окислительного стресса. Установлены также внутриклеточные каскады, запускаемые рецепторами факторов роста, ядерными рецепторами и реализующиеся при участии MAPK, PI3K-Akt, mTOR, Wnt сигнальных путей. На основании полученных списков генов отобрано 47 сигнальных путей, в состав которых входили гены-мишени дэ-мкРНК, выявленные на предыдущем этапе.

Из представленных генов с повышенной экспрессией можно отметить *AKT3*, кодирующий протеинкиназу В, которая встречается в 11 сигнальных путях, стимулирующих пролиферацию. Среди генов с пониженной экспрессией можно отметить *TP53*, входящий в состав 15 сигнальных путей, продуктом которого является белок p53, индуцирующий остановку клеточного цикла, апоптоз, и являющийся онкосупрессором. Среди белковых продуктов генов-мишеней можно выделить транскрипционные факторы, регуляторы клеточного цикла, онкогены, факторы клеточной адгезии. Данный набор эффекторов способен обеспечить многоуровневую регуляцию клеточной пролиферации, миграции и дифференцировки. На основании полученных данных можно заключить, что изменение экспрессии мкРНК может служить дополнительным фактором, участвующим в развитии патологических процессов при эндометриозе.

При низком ОВР отличия в экспрессии мкРНК между *Ec* и *Eu* были менее выражены (15 дэ-мкРНК). Можно предположить, что в основе наблюдаемых изменений экспрессии мкРНК при низком и нормальном ОВР существенную роль играет изменение гормонального контроля функций эндометрия со стороны патологически измененных яичников. В пользу этого также свидетельствуют выявленные отличия в экспрессии мкРНК в парах сравнения одной локализации (*EcL-EcN*, *EuL-EuN*) при низком и нормальном ОВР. Изменение состава и направления экспрессии ряда мкРНК может

оказывать влияние на экспрессию их генов-мишеней в эктопическом эндометрии, что в свою очередь может как стимулировать прогрессирование эндометриоза, так и оказывать дополнительное негативное действие на ОВР за счет модулирования гормонозависимых сигнальных путей и сигнальных каскадов, сопряженных с воспалением.

Влияние эстрогенов и прогестерона на экспрессию мкРНК показано в ряде работ с использованием как культивируемых клеток эндометрия, так и клеток, полученных в пролиферативную и секреторную фазу цикла [281, 282]. Помимо локализации в пределах одной клетки, мкРНК потенциально могут действовать дистанционно за счет секреции в составе экзосом. Установлено, что экзосомы содержат микроРНК, мРНК и белки, способные модулировать иммунные реакции, выживание и дифференцировку клеток [283]. Экзосомы эпителиальных и стромальных клеток эндометрия содержат мкРНК, мишенями которых являются молекулы клеточной адгезии, компоненты внутриклеточного каскада Jak-STAT и сигнальных путей VEGF и Toll-подобных рецепторов. При этом экзосомы эндометрия могут участвовать как в процессе имплантации, обеспечивая коммуникацию между клетками стенки матки и эмбрионом, так и формировании гетеротопий за счет влияния на активность резидентных клеток в месте развития очага [284]. В ряде работ показано участие некоторых мкРНК в индукции апоптоза клеток гранулезы и замедлении созревания ооцитов [285, 286]. Можно предположить, что мкРНК, секретируемые в составе экзосом клетками эктопического эндометрия, могут влиять на овариальную функцию за счет изменения сигнальных каскадов в клетках яичника.

Таким образом, дисбаланс в экспрессии мкРНК в тканях кисты при нормальном ОВР может способствовать прогрессированию патологического процесса, развитие которого усиливает токсическое действие на ткани яичника. Постепенное снижение функции яичника в результате этого воздействия приводит к переключению клеточного гомеостаза на гормоннезависимые регуляторные каскады (Wnt, Notch, Hedgehog, Tgfb). Этому также может способствовать снижение экспрессии гормончувствительных регуляторных мкРНК как в эктопическом, так и эутопическом эндометрии. Отсутствие регуляторных влияний приводит к нарушению

процессов пролиферации, дифференцировки, воспаления в тканях эндометрия, что может способствовать токсическому действию на ткань яичника со стороны кисты, а также приводить к нарушению децидуализации и снижению рецептивности эутопического эндометрия. В совокупности указанные факторы могут вносить весомый вклад в развитие бесплодия у больных эндометриозом яичников. Транскриптомный анализ мРНК также показал значительное снижение количества дифференциально экспрессируемых генов в эктопическом эндометрии относительно эутопического при низком ОВР, что свидетельствует о менее выраженных различиях на уровне транскрипции между эктопическим и эутопическим эндометрием при снижении функции яичников. На основании анализа количества дифференциально экспрессированных генов в эутопическом эндометрии при низком и нормальном резерве можно предположить, что снижение функции яичников в меньшей степени сказывается на формировании различий в экспрессии генов в тканях данной локализации. При этом сравнение экспрессии генов в эктопическом эндометрии при разных типах ОВР показало наличие выраженных различий между тканями овариальных кист. Таким образом, в зависимости от состояния ОВР могут наблюдаться существенные изменения в экспрессии мкРНК и мРНК, что необходимо учитывать при формировании групп сравнения в дальнейших исследованиях эндометриоза.

При помощи биоинформационного анализа продемонстрировано, что изменение паттернов экспрессии мкРНК и мРНК в эутопическом и эктопическом эндометрии может приводить к дисбалансу внутриклеточных каскадов и способствовать развитию эндометриоза. Установлено, что гены, идентифицированные в парах сравнения Ес/Еи при низком и нормальном ОВР, входят в состав 10 сигнальных путей, задействованных в опухолевом процессе, и 4 сигнальных путей, участвующих в регуляции клеточного цикла. Обращает на себя внимание обогащение по сигнальным путям, связанным с повреждением и репарацией ДНК (7 путей). Данное наблюдение свидетельствует о дестабилизации генетического аппарата в клетках эктопического эндометрия, что может быть связано с генотоксическим действием окислительного стресса. Гены, участвующие в клеточных ответах на повышение уровня реактивных форм кислорода, также были выявлены в результате прове-

денного анализа. Сходные результаты получены при обогащении списков генов-мишеней дэ-мкРНК.

Выявлено несколько сигнальных путей, обеспечивающих регуляцию адаптивного ответа клеток в условиях окислительного стресса. Одним из факторов развития окислительного стресса является процесс воспаления, наличие которого в очагах эндометриоза хорошо известно. Транскриптомный анализ выявил гены, участвующие в воспалительных реакциях, клеточных ответах при стимуляции ИЛ-1, а также при активации системы комплимента. На уровне мишеней мкРНК также показаны сигнальные пути, связанные с воспалительным ответом и внутриклеточными каскадами, реализуемыми при участии интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9), а также при активации системы комплимента. Недавно показано разнонаправленное изменение содержания интерлейкинов ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-7, ИЛ-9 в тканях эктопического эндометрия относительно эутопического. В частности, наблюдались повышение уровня ИЛ-2 и снижение содержания ИЛ-5, ИЛ-7, ИЛ-9, а также снижение количества антагониста рецептора ИЛ-1 (ИЛ-1ra) в тканях эктопического эндометрия [287]. В другом исследовании [288] наблюдалось повышение экспрессии рецептора ИЛ-1 типа I в эндометриоидных очагах, что может свидетельствовать в пользу дисрегуляции клеточных ответов, запускаемых ИЛ-1, в очаге воспаления. Так, ИЛ-1 может индуцировать секрецию ИЛ-6 фибробластами, эндотелиальными клетками и циркулирующими моноцитами [289] и может стимулировать секрецию ИЛ-8 клетками эндометрия [290]. Активация сигнальных путей ИЛ-6 и ИЛ-8 способствует развитию воспаления за счет стимуляции миграции и активации лейкоцитов. Продукция ИЛ-6 клетками эндометрия повышается в ответ на стимуляцию эстрогенами, уровень которых увеличивается в ответ на действие ИЛ-1 и фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) [291]. ИЛ-6 играет важную роль в процессах воспаления за счет активации Т-лимфоцитов и стимуляции дифференцировки В-клеток. ИЛ-1 также может стимулировать экспрессию циклооксигеназы-2 (COX-2), в результате чего повышается продукция простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Повышение экспрессии рецептора ИЛ-1 и снижение экспрессии его антагониста могут приводить к гиперэкспрессии COX-2 в тканях эндометрия, что было подтверждено в ряде работ [292, 293]. Синтез и секреция PGE<sub>2</sub> могут дополнительно стимулировать экс-

прессию COX-2, кроме того, PGE2 способен индуцировать продукцию ароматазы, которая является ключевым регуляторным ферментом в биосинтезе эстрогенов [294]. Таким образом, синтез PGE2 обеспечивает на локальном уровне поддержание повышенного содержания простаноидов и эстрогенов. PGE2 также способен повышать фагоцитарную активность иммунных клеток и стимулировать ангиогенез через увеличение экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [295], что дополнительно способствует выживанию клеток эндометриоидных гетеротопий. Указанные наблюдения согласуются с полученными нами данными об участии дифференциально экспрессированных генов и генов-мишеней мкРНК в путях биосинтеза простагландинов и сигнальных каскадах, запускаемых эстрогенами. Продукция IL-5 наблюдается преимущественно в тучных клетках при развитии аллергического ответа поздней фазы [295] и может вносить существенный вклад в развитие воспаления в тканях эктопического эндометрия. Повышение содержания IL-7 может стимулировать продукцию MIP-1 $\beta$  (воспалительный белок макрофагов), который является воспалительным хемокином. Повышенная экспрессия IL-7 выявлена в воспаленных тканях при аутоиммунных заболеваниях [296]. Помимо IL-7, IL-2 и IL-10 также ассоциированы с аутоиммунными состояниями, что свидетельствует о наличии аутоиммунного компонента в комплексном иммуномодулирующем эффекте различных цитокинов. Имеются данные, указывающие на наличие изменений в активности В-клеток и увеличение количества ауоантител у женщин с эндометриозом. Среди них различают антитела к фосфолипидам, гистонам, полинуклеотидам, а также антитела, специфические к тканям эндометрия и яичников [297].

Таким образом, дисрегуляция иммунных ответов в тканях эктопического эндометрия может приводить к повышению активности макрофагов, усилению пролиферативного ответа со стороны лейкоцитов и клеток эндометрия и образованию ауоантител. Лейкоциты и другие клетки выделяют цитокины и факторы роста во внеклеточное пространство эндометрия, где они могут функционировать как паракринные медиаторы, влияющие на активность соседних тканей. Таким образом, воспалительный процесс и окислительный стресс могут вносить существенный вклад в совокупность патогенетических процессов, приводящих к нарушению

функции яичников и снижению ОВР. Установлено, что у больных эндометриозом в фолликулярной жидкости наблюдаются повышение содержания IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  и снижение уровня VEGF [298, 299]. Снижение уровня VEGF у женщин с эндометриозом может приводить к снижению качества эмбрионов и вероятности имплантации, в частности за счет нарушений ангиогенеза и трофики клеток яичника [300]. Повышение уровня цитокинов в свою очередь может вызывать нарушения клеточного цикла фолликулярных клеток и приводить к замедлению созревания ооцитов [301]. Повышение уровня IL-6 в преовуляторных фолликулах пациенток с эндометриозом приводит к снижению активности ароматазы через активацию сигнального пути MAPK. Снижение активности ароматазы приводит к снижению конверсии фолликулами андростендиона в эстрон и его преобразованию в тестостерон, который превращается в эстроген. Снижение продукции эстрогенов фолликулами лежит в основе снижения ОВР и бесплодия [302, 303]. Снижение содержания прогестерона в фолликулярной жидкости также показано у больных эндометриозом, что может быть подтверждением нарушений стероидогенеза в яичниках. Продукция цитокинов и активация лейкоцитов на локальном уровне могут приводить к усилению продукции реактивных форм кислорода и развитию окислительного стресса. У больных эндометриозом обнаружено повышение уровня маркеров окисления ДНК и перекисного окисления липидов в клетках гранулезы, что может быть причиной нарушения их функций и приводить к замедлению роста фолликулов [301]. Показано также, что окислительный стресс индуцирует повреждение геномной и митохондриальной ДНК, что непосредственно приводит к снижению фертильности [304]. В ряде исследований [305] установлено, что инкубация гамет и эмбрионов в присутствии перитонеальной жидкости больных эндометриозом приводит к повышению дефрагментации ДНК, и степень повреждения коррелирует с длительностью экспозиции и тяжестью заболевания. Можно предположить, что увеличение повреждения ДНК ооцитов и эмбрионов приводит к увеличению числа самопроизвольных патологических прерываний беременности, неудачам при оплодотворении и имплантации у пациентов с эндометриозом. Далее в процессе биоинформационной обработки данных выявлено 15 сигнальных путей, запускаемых активацией кле-

точных рецепторов. Наиболее представленными по количеству генов явились сигнальные пути, ассоциированные с ядерными рецепторами, к которым относятся рецепторы к половым гормонам. В частности, наблюдалось снижение экспрессии рецепторов к прогестерону, а также снижение экспрессии эстрогенового рецептора 1-го типа (ESR1) и повышение экспрессии эстрогенового рецептора 2-го типа (ESR2) в очагах эктопического эндометрия. С данным фактом связывают развитие резистентности к прогестерону и снижение его антипролиферативного эффекта. Изменение соотношения уровней экспрессии подтипов эстрогеновых рецепторов показано ранее, причем повышение экспрессии ESR2 ассоциировано со снижением метилирования промотора его гена [306]. Повышение экспрессии ESR2 приводит к подавлению экспрессии ESR1, а усиление сигнализации через ESR2 - к снижению экспрессии рецепторов к прогестерону [307, 308]. Данный механизм способствует развитию резистентности к прогестерону и снижению его антипролиферативного и проапоптотического влияния на клетки эктопического эндометрия, а также снижению экспрессии фермента метаболизма эстрогенов HSD17B2 [309, 310]. Помимо сигнальных путей ядерных рецепторов, выявлены сигнальные пути, активируемые рецепторами факторов роста (VEGF, TGF- $\beta$ , Hedgehog, Notch) и некоторых гормонов (тиреотропин, глюкокортикоиды); эти сигнальные пути реализуются через сигнальные каскады, ключевыми регуляторами которых являются киназы PI3K, Akt, Ras, MAPK. Показано 4 сигнальных пути, включающие Wnt сигнальный каскад, играющий важную роль в процессах пролиферации и клеточной дифференцировки, который запускается Wnt-лигандами и их рецепторами (Frizzled рецепторы, FZD). Сигнальные пути Wnt, Hedgehog, Notch являются ключевыми в регуляции активности стволовых клеток для осуществления процессов развития, обновления и регенерации тканей млекопитающих, в том числе и эндометрия. На основании результатов ряда исследований появилось предположение, что поддержание и развитие эндометриоидных гетеротопий происходит не только в результате изменения продукции половых гормонов и экспрессии их рецепторов, но и за счет дисбаланса в сигнализации указанных выше путей [310]. Обсуждается и гипотеза о том, что развитие и рецидив заболевания могут быть связаны с образованием стволовых клеток в тканях

эндометрия, способных пережить длительное отсутствие эстрогеновой стимуляции на фоне медикаментозной терапии или при снижении функции яичников. Поддержание клона таких клеток и их последующая экспансия могут регулироваться при участии Wnt, Hedgehog и Notch сигнальных каскадов [310, 311]. Кроме этого, выявлен сигнальный путь, запускаемый серотониновыми рецепторами. Модулирование серотониновой сигнализации может быть связано со снижением порога болевой чувствительности и развитием болевого синдрома у больных эндометриозом.

Отдельно следует отметить обогащение по сигнальному пути развития бесплодия, связанного с нарушением овариальной функции. В данный сигнальный путь вошли 8 дифференциально экспрессированных генов: 5 генов с повышенной экспрессией и 3 — с пониженной экспрессией. В частности, наблюдаются снижение экспрессии генов прогестероновых и пролактиновых рецепторов и повышение экспрессии генов эстрогенового рецептора 2-го типа, рецептора фолликулостимулирующего гормона и рецептора PGE<sub>2</sub>. Помимо рецепторов, выявлены гены, входящие в пути биосинтеза простагландинов. Можно предположить, что PGE<sub>2</sub> и другие эйкозаноиды, образующиеся в тканях эндометриозной кисты, кроме участия в воспалительных реакциях, могут оказывать действие на соседние ткани яичника, влияя на активацию и атрезию фолликулов. Необходимо подчеркнуть, что дисрегуляция экспрессии мкРНК в эндометрии и нарушения клеточной сигнализации указанных выше сигнальных путей также могут вносить существенный вклад в развитие бесплодия у больных эндометриозом за счет нарушения процессов децидуализации. Формирование адекватного интерфейса на внутренней поверхности матки, обеспечивающего прикрепление, инвазию, трофику и иммунорезистентность зародыша, необходимо для успешной имплантации и развития беременности. Поэтому aberrантная децидуализация является одним из ключевых факторов формирования бесплодия. Идентифицировано несколько клеточных путей, способных при эндометриозе вызывать дефекты децидуализации. Основным гормоном, инициирующим и поддерживающим децидуализацию, является прогестерон. Клеточные пути, реализуемые при участии протеинкиназы А (РКА), усиливают эффекты прогестерона, тогда как активация сигнальных путей киназ АКТ и MAPK их ингибиру-

ет [312]. Активация сигнального пути киназы АКТ может также приводить к снижению экспрессии рецепторов прогестерона, что показано на примере стромальных клеток эндометрия, полученных от больных эндометриозом [313, 314]. Кроме этого, ингибиторы киназы АКТ повышают экспрессию прогестероновых рецепторов, снижают выживаемость клеток за счет стимулирования апоптоза при эндометриозе [314]. *NOTCH1* — еще один ген, который имеет решающее значение для децидуализации. Снижение сигнализации Notch связано с эндометриозом и способствует нарушению децидуализации за счет снижения экспрессии транскрипционного фактора FOXO1 [315].

Таким образом, биоинформационный анализ сигнальных путей и процессов, основанный на транскриптомных данных, показал, что идентифицированные гены могут принимать участие практически во всех аспектах патогенеза эндометриоза. Полученные результаты свидетельствуют о важном вкладе мкРНК в патогенез эндометриоза и сопутствующих ему осложнений, связанных с бесплодием. Следует отметить, что изменение содержания транскриптов мкРНК и мРНК не всегда сопровождается соответствующим изменением содержания целевого белка. При этом взаимодействие мкРНК с мРНК-мишенью может не приводить к деградации последней, поэтому анализ изменения транскриптома может дать только первичную информацию как о возможных мишенях мкРНК (мРНК и их белковых продуктах), так и о возможных изменениях активности путей внутриклеточной сигнализации, в состав которых они входят. Для большинства установленных в результате анализа экспрессируемых генов отсутствует информация о дифференциальной экспрессии кодируемых ими белков в тканях эктопического и эутопического эндометрия. В этой связи представляется целесообразным наряду с оценкой транскриптома (мкРНК и мРНК) проводить профилирование белкового состава исследуемых тканей для получения более полной информации о взаимосвязи между дэ-мкРНК и их белковыми мишенями. Тем не менее представленный подход представляется перспективным для обобщения многоуровневых молекулярных взаимодействий, а также для выявления компонентов сигнальных путей, участвующих в развитии эндометриоза. Дальнейшие исследования с использованием протеомных и биоинформационных технологий,

направленные на определение белковых продуктов генов в клетках и тканях эктопического и эутопического эндометрия, позволят получить более полное представление о молекулярных механизмах патогенеза эндометриоза, а также выявить возможные терапевтические мишени для лечения этого заболевания.

## **2.4 Иммунопатогенез гиперплазии эндометрия**

В структуре гинекологических заболеваний на долю гиперплазии эндометрия (ГЭ) приходится 15-40% [316, 317]. ГЭ у женщин репродуктивного возраста является потенциальной причиной снижения фертильности и фактором риска развития онкологической патологии [318]. В основе ГЭ лежит изменение железисто-стромальных взаимоотношений, которое сопровождается расстройством координации между железистыми и стромальными компонентами, обусловленным нарушением действия стероидных гормонов на субклеточном уровне [319, 320]. С 1994 по 2003 г. специалисты ВОЗ выделяли типичную ГЭ и атипичскую ГЭ и подразделяли каждую из них на простую и сложную. Однако данная классификация требовала существенного пересмотра в связи с тем, что гиперпластические процессы эндометрия представляют собой гетерогенную группу патологических процессов, включающих изменения, распределяющиеся от доброкачественной эстрогензависимой пролиферации желез до моноклональных разрастаний генетически измененной ткани [321].

В 2007 г. Е.А. Коган и соавт. [322-324] предложили новую классификацию патологии эндометрия, в которой выделили: простую ГЭ, комплексную ГЭ без атипии, комплексную ГЭ с атипией и высокодифференцированную аденокарциному эндометрия. В последней классификации ВОЗ (2014) приведены только 2 категории ГЭ: без атипии и атипичная/эндометриоидная интраэпителиальная неоплазия. ГЭ без атипии не ассоциирована с генетическими изменениями и прогрессирует в карциному не более чем в 2% случаев при условии аномального эндокринного воздействия. ГЭ с атипией трансформируется в карциному в 23% случаев [325]. Морфологическая структура ГЭ без атипии характеризуется увеличением числа как железистых, так и стромальных элементов.

Железы в строме распределены относительно неравномерно. Размер их варьирует - от мелких до крупных, кистозно-расширенных. Выстилающий желез эпителий чаще всего высокий призматический, ядра гиперхромные, располагаются на разных уровнях клетки, что делает выстилку желез ложномногорядной. Строма клеточная, богата аргирофильными волокнами и капиллярами. Аспират из эндометрия при железистой гиперплазии обычно бывает обильным. Атипическая железистая ГЭ отличается очаговым или диффузным тесным расположением желез, утратой стромы между ними и выраженной многорядностью эпителия. Ядра с полиморфизмом утрачивают базальную ориентацию. Количество митозов варьирует, и ядрышки неразличимы. Стромальные клетки нередко приобретают веретенообразную форму из-за сдавления их железами [326, 327].

Классификация ГЭ, предложенная ВОЗ, максимально приближена к Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), в которой выделены следующие гиперпластические процессы эндометрия: N84.0. Полип тела матки; N85.0. Железистая гиперплазия эндометрия; N85.1. Аденоматозная гиперплазия эндометрия [328].

В альтернативной классификации выделены группа доброкачественных заболеваний с незначительным риском озлокачествления и группа заболеваний с высоким риском трансформации в инвазивную карциному - интраэпителиальная неоплазия эндометрия (EIN - endometrial intraepithelial neoplasia). Диагностические критерии EIN разработаны с учетом выявленных корреляций между гистопатологией и клиническими исходами. Система EIN опирается на ряд исследований, в которых изучена экспрессия фосфатазы и гомолога тензина (PTEN) железами эндометрия, что отражает их пролиферативную активность [329-331].

Многофакторность патогенеза ГЭ создает затруднения в выборе терапии, поскольку до конца не ясны механизмы неэффективности лечения гормональными препаратами отдельных пациенток с ГЭ, а также причины возникновения рецидивов заболевания. Согласно литературным данным, частота озлокачествления при ГЭ колеблется в достаточно широких пределах (0,25—5%) и определяется морфологическими особенностями заболевания, длительностью его рецидивирования, а также возрастом пациенток

[332]. По данным эпидемиологических исследований, ежегодно в мире выявляют примерно 150 тыс. новых больных раком тела матки, из которых 42 тыс. умирают. Поэтому проблема раннего выявления предраковых заболеваний, таких как атипичная ГЭ, аденоматозные полипы, железисто-кистозная ГЭ в менопаузе, заслуживает особого внимания. Гистологическое исследование соскобов слизистой оболочки матки - наиболее информативный метод диагностики гиперпластических процессов по сравнению с ультразвуковым исследованием, однако и он имеет ряд недостатков, основным из которых является его инвазивность. В связи с этим возникает необходимость разработки диагностических и прогностических критериев, включая биомолекулярные маркеры, которые с высокой точностью даже при небольшом количестве материала позволят установить правильный диагноз. Классическим методом определения пролиферативной активности является подсчет количества митозов в гистологическом препарате (митотический индекс), который позволяет выявить клетки в фазе конденсации и расхождения хромосом, если видны характерные фигуры митоза [333].

Другим способом выявления пролиферативной активности служит оценка рецептивности эндометрия к биологически активным веществам. Эндометрий проявляет высокую чувствительность к гормонам, особенно к эстрогенам, прогестерону, в меньшей степени к андрогенам и глюкокортикостероидам, морфологические изменения ткани напрямую зависят от количества гормонов. ГЭ отличается не только характерной морфологической картиной, но и специфическим иммуногистохимическим профилем. Эстроген вызывает морфологические изменения в матке, проявляющиеся нарушением структуры люминального и железистого эпителия, увеличением количества и изменением формы желез, морфологическими изменениями в эпителиальных клетках.

L. Deligdisch и S. Silverberg в 2000 г. описали эти изменения слизистой матки при гиперэстрогении, а в 2001 г. А. Gunin и соавт. подтвердили этиологическую связь ГЭ с повышенной чувствительностью эндометрия к эстрогену на мышинных моделях [334-337]. Аналогичные результаты получены в работе В.Н. Прилепской [338], доказавшей, что в эндометрии женщин без ГЭ содержание рецепторов эстрадиола существенно ниже, чем в образцах

ткани при железисто-кистозной ГЭ. В то же время количество рецепторов прогестерона в эндометрии при прогрессировании гиперплазии уменьшается. G. Huang и соавт. [339] установили, что экспрессия рецепторов эстрогена при аденокарциноме эндометрия не отличалась от таковой при атипической, простой и комплексной ГЭ. Доля рецепторов эстрогена типа  $\beta$  была значительно ниже при атипической ГЭ и аденокарциноме эндометрия по сравнению с простой и сложной ГЭ, а также ниже, чем в нормальном эндометрии. Авторы сделали вывод, что снижение уровня рецепторов эстрогена типа  $\beta$  играет важную роль в прогрессировании аденокарциномы эндометрия.

И.О. Макаров и соавт. [340] приводят данные о том, что у женщин с атипической ГЭ повышается уровень рецепторов не только эстрадиола, но и прогестерона. Наряду с рецепторами эстрогена как в эпителиальных, так и в стромальных клетках эндометрия присутствуют рецепторы прогестерона в двух изоформах PR-A и PR-B. Роль стромы в антипролиферативном действии прогестерона на эпителий эндометрия изучали при исследовании тканевой рекомбинации с использованием мышей с блокированными рецепторами прогестерона, которые, как было показано, нечувствительны к ингибирующему действию прогестерона на индуцированную эстрогеном ГЭ. Эти результаты ясно показали, что прогестерон ингибирует пролиферацию эпителиальных клеток эндометрия через рецепторы стромальных клеток, тогда как наличие рецепторов на эпителиальных клетках не является необходимым условием для проявления подавляющего воздействия прогестерона на индуцированную эстрадиолом пролиферацию.

Для объяснения этих результатов предложены три вероятных механизма: прогестерон блокирует синтез митогенных медиаторов клетками стромы; прогестерон активирует паракринные ингибиторы роста; и/или прогестерон ингибирует действие рецепторов эстрогена ER типа  $\alpha$  посредством механизмов, не связанных с транскрипцией. Однако все они ведут к тому, что относительный или абсолютный недостаток прогестерона вызывает избыточную пролиферацию железистых клеток [341]. Молекулярная биология, клиническая иммунология и медицинская генетика позволили расширить представление о клеточном взаимодействии и процессах внутри клеток. Установлено, что в регуляции клеточной про-

лиферацией принимают участие не только эстрогены, но и цитокины, факторы роста, продукты обмена арахидоновой кислоты.

Определено, что в развитии ГЭ важную роль играет цитокиновый дисбаланс [342]. Приводятся противоречивые данные о роли фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в развитии гиперплазии эндометрия. А.В. Жданов и соавт. [348] выявили связь между развитием атипичической ГЭ и уменьшением продукции TNF- $\alpha$ , ядерного маркера пролиферирующих клеток, мРНК эпидермального фактора роста и усилением продуцирования мРНК Fas. Авторами также показано, что экспрессия TNF- $\alpha$ , интерлейкинов IL-1 $\beta$  и IL-12 уменьшается только при ГЭ без атипии, тогда как экспрессия инсулиноподобного фактора роста 1-го типа (IGF-1) снижалась только при атипичической ГЭ. На уменьшение содержания TNF- $\alpha$  при атипичической ГЭ и раке эндометрия указывают также данные T. Vaskivuo и соавт. [349].

Описывают увеличение продукции и активирующее воздействие TNF- $\alpha$  на пролиферацию эндометрия и стимуляцию неоангиогенеза под воздействием эстрогенов [345]. Несмотря на зависимость от половых стероидных гормонов, TNF- $\alpha$  сам по себе может усилить локальный синтез эстрогенов в клетках эндометрия путем стимуляции стероидогенного фактора 1-го типа и индукции экспрессии ароматазы [346]. На современном этапе изучения эндометрия сформировано понятие о системе IGF, в которую входят рецепторы IGF-1, IGF-2 и шесть белков, связывающих инсулиноподобные факторы роста (IGFBPs), и расщепляющие их протеиназы [347]. Установлено, что синтез IGF-1 индуцируется эстрадиолом, поэтому его уровень выше в эндометрии при ГЭ и аденокарциноме, чем в нормальной эндометрии в фазу пролиферации [348, 349].

Избыточную пролиферацию связывают не только с гиперэстрогенией, нарушениями экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, но и с выраженным влиянием биологически активных веществ, стимулирующих пролиферативную активность, а также с нарушением генетических механизмов регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Поэтому при оценке и интерпретации полученных данных о пролиферативной активности клеток необходимо учитывать уровень отдельных маркеров и их экспрессию, а также весь спектр реакций, в которых они при-

нимают участие. Отсутствие унифицированной классификации гиперплазии эндометрия затрудняет единый подход к диагностике, лечению и прогнозу развития и течения данной патологии.

*Роль межклеточных соединений при карциноме эндометрия*

Карцинома эндометрия - одно из наиболее часто диагностируемых гинекологических злокачественных новообразований. Основываясь на клинических и гистопатологических критериях, он подразделяется на два подтипа. Эндометриоидная аденокарцинома тип I, на которую приходится около 80% случаев, является эстроген-зависимой, характеризуется сложной и атипичной гиперплазией эндометрия. Карцинома эндометрия типа II включает серозно-папиллярный и светлоклеточный типы клеток и является более агрессивной и эстроген-независимой. Изменения в межклеточных контактах играют важную роль в патогенезе и прогрессировании рака. Это связано с тем, что они участвуют в передаче сигналов, регулирующих экспрессию генов [350].

*Роль белков клаудина в патогенезе карциномы эндометрия*

При аденокарциноме эндометрия наблюдается морфологическое нарушение плотных контактов [351]. В аденокарциноме эндометрия белки клаудин-3 и клаудин-4 синтезируются больше с изменением клинико-патологических особенностей ткани, прогрессируя от простого к сложному и от атипичной гиперплазии к эндометриоидной карциноме. Есть предположение, что повышенный уровень клаудина предшествует нарушению плотных контактов. Значительное повышение уровня клаудина-3, -4 и -7 по сравнению с нормальными клетками эндометрия обнаруживается в первичной культуре серозно-папиллярных клеток опухоли эндометрия, наиболее агрессивной разновидности эстроген-независимой карциномы эндометрия II типа. Наблюдается снижение синтеза клаудина-5 в этих опухолевых клетках. Синтез белков клаудина разных подтипов может отличаться при разных типах рака эндометрия. При оценке с помощью ИГХ было обнаружено низкое содержание белка клаудина-1 и высокое содержание белка клаудина-2 при гиперплазии и эндометриоидной аденокарциноме (тип I), однако при серозно-папиллярной аденокарциноме (тип II) были обнаружены высокие уровни клаудина-1 и низкие уровни клаудина-2.

### *Роль белка E-кадгерина при карциноме эндометрия*

В настоящее время хорошо изучена роль молекул адгезии E-кадгерина и бета-катенина в канцерогенезе карциномы эндометрия, и предполагается, что определение экспрессии этих белков может быть использовано как прогностический маркер [352]. Низкая экспрессия E-кадгерина коррелирует с увеличением агрессивности, плохой дифференцировкой и глубокой инвазией миометрия в карциному. Также было обнаружено, что E-кадгерин больше синтезируется при эндометриоидной аденокарциноме, чем в серозно-папиллярных или светлоклеточных опухолях. Интересно, что высокий уровень E-кадгерина был связан со снижением смертности и прогрессированием заболевания, и частотой рецидивов заболевания и, таким образом, связан с лучшим прогнозом.

### *Роль белков коннексинов Cx26, Cx32 и Cx43 при карциноме эндометрия*

Нарушение контакта между щелевыми соединениями или aberrantная экспрессия коннексинов является одним из звеньев патогенеза канцерогенеза. При гиперплазии и карциноме эндометрия снижается синтез белков Cx26 и Cx32 в эпителии эндометрия, а также Cx43 в стромальных клетках эндометрия и, как следствие, нарушается коммуникация щелевого межклеточного контакта [353]. В процессе канцерогенеза эндометрия нарушение межклеточной коммуникации через щелевые соединения может происходить на относительно ранних стадиях. Корреляция между снижением синтеза коннексина и прогрессированием рака была подтверждена тем, что активация рецептора эстрогена-альфа, являющаяся основным этиологическим фактором, связанным с развитием гиперплазии эндометрия и аденокарциномы, нарушает межклеточную коммуникацию щелевого соединения и экспрессию коннексинов Cx26 и Cx32 в клетках карциномы эндометрия.

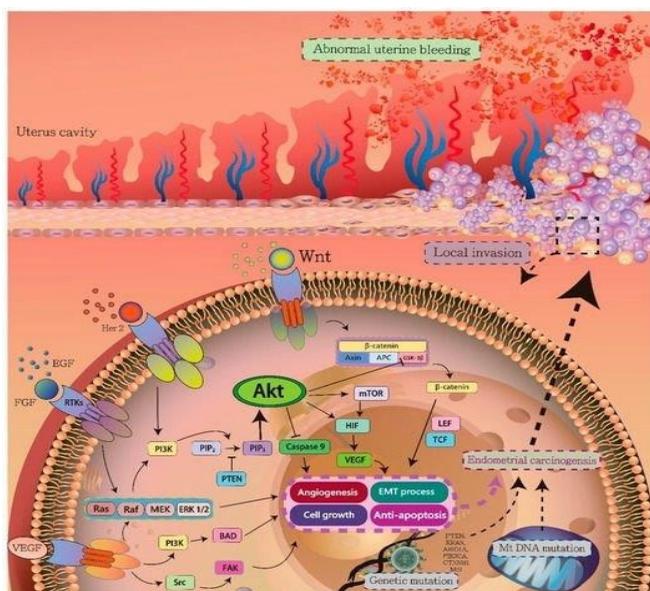
### *Роль белка бета-катенина при карциноме эндометрия*

Синтез белка бета-катенина снижается с увеличением степени злокачественности рака эндометрия [354]. Более того, мутации в гене  $\beta$ -катенина (*CTNNB1*) приводят к снижению межклеточной адгезии, и они были зарегистрированы примерно в 15% эндометриоидных карцином. Поскольку бета-катенин является фактором транскрипции, который участвует в пути передачи сигнала WNT, который, в свою очередь, является решающим для канцерогенеза,

он может проявлять свой эффект через этот путь передачи сигнала. Белки межклеточных контактов могут оказывать значительное влияние на патогенез рака эндометрия. Помимо обеспечения правильной клеточной структуры, они могут регулировать сигнальные пути, участвующие в патогенезе и прогрессировании рака эндометрия, и, таким образом, могут представлять собой многообещающие прогностические инструменты для диагностики и терапии рака.

### *Сигнальные пути канцерогенеза эндометрия*

Мутации в генах и дисбаланс эстрогена и прогестерона могут запускать несколько путей, включая путь передачи сигналов Ras/Raf/MEK/ERK, путь передачи сигналов WNT/ $\beta$ -катенина, путь АКТ/PI3К, путь фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [356].



**Рисунок 14 - Сигнальные пути канцерогенеза эндометрия**

Мутации, участвующие в канцерогенезе, вызывают пролиферацию клеток, ангиогенез, эпителиально-мезенхимальный переход и антиапоптозный эффект, что способствует инвазии и метастазированию раковых клеток.

## ГЛАВА 3 ИММУНОТЕРАПИЯ

Благодаря бурному развитию фундаментальной иммунологии в XX веке и появлению возможности проведения тончайших исследований состояния иммунной системы был создан мощный арсенал иммунотерапевтических препаратов с различным спектром действия, насчитывающий более тысячи различных препаратов: вакцины, иммуноглобулины, бактериофаги, препараты нормофлоры, аллергены, цитокины [357].

Вначале появилось понятие иммунотерапия, подразумевающее лечение той или иной патологии иммунологическими методами. Затем возникла проблема аутоиммунных заболеваний с необходимостью торможения функционирования иммунной системы, и здесь понятие иммуносупрессия было точным. Появление вторичных иммунодефицитов ввело понятие иммуностимуляции, но возник вопрос, какое звено иммунной системы стимулировать? Внедрение в практику понятия иммунокоррекции подразумевало коррекцию нарушенных показателей до нормальных уровней. Но часто возникал вопрос, всегда ли нужно какие-то показатели приводить к норме? На этом фоне появление понятия иммуномодуляции наиболее удачно характеризует иммунотропное действие с эффектом восстановления пониженных или повышенных значений. Таким образом, иммуномодуляторы – это препараты, специфические влияющие на функциональную систему иммунного гомеостаза в общем или на ее отдельные регуляторные звенья и характеризующиеся тропностью к иммунной системе [358].

С различной степенью интенсивности на иммунную систему могут влиять и другие, самые различные препараты и воздействия, например пищевые добавки, различного рода цитостатики и ионизирующее излучение. Однако такие модуляторы не обладают тропностью к системе иммунитета и специфическим действием на ее параметры и в относительно равной степени действуют на различные организменные системы, в том числе и на иммунную. Поэтому они не могут относиться к категории иммуномодуляторов и именуется как препараты, неспецифически влияющие на иммунную систему, способные оказывать депрессивное или, наоборот, стимулирующее действие на ее количественные и/или функциональные параметры.

Согласно классификации иммуномодулирующих препаратов (2015), иммуномодуляторы подразделяют по происхождению (экзогенные или эндогенные), способу получения (природные или синтетические) и по действию на клетки-мишени. При этом к экзогенным относятся бактерии, бактериальные продукты, нуклеиновые кислоты, минеральные соли, органические соединения, поверхностно-активные вещества. Эндогенные иммуномодуляторы включают интерфероны, цитокины, вещества, продуцируемые клетками организма и участвующими в иммунном ответе [359].

### **Классификация иммуномодулирующих препаратов (Сепиашвили, 2015)**

<b>ЭКЗОГЕННЫЕ</b>	
<b>I. Препараты бактериального происхождения</b>	
I.1 Естественные бактериальные препараты	Бронхомунал, Бронхо-ваксом, Рузам, Имудон, ИРС-19, Рибомунил, Уро-Ваксом, Солкоуровак
I.2 Полусинтетические бактериальные препараты	Ликопид
<b>II. Препараты растительного происхождения</b>	Эхинацея - Иммуноорм, Иммунал, Эстифан Иммуномакс
<b>ЭНДОГЕННЫЕ</b>	
<b>I. Пептидные препараты</b>	Тактивин, тимоптин, тимактид, тималин, тимостимулин, миелолипид
<b>II. Цитокины и препараты на их основе</b>	
II.1 Препараты на основе интерферонов	Бетаферон, Интрон А, Локферон, Инфагель, Ребиф, Роферон, Лейкинферон, Реаферон, Генферон
II.2 Препараты на основе интерлейкинов (рекомбинантные)	Пролейкин, Беталейкин, Ронколейкин, Нейпомакс (филграстим)
II.3 Индукторы интерферонов	Аллокин-альфа, Панавир, Кагоцел, Амиксин, Неовир, Ар-

	бидол, Циклоферон, Моликсан
II.4 Препараты комплекса цитокинов	Суперлимф, Аффинолейкин
<b>III. Препараты антител</b> III.1 Иммуноглобулины	Имбиоглобулин, Иммуноветин, Пентаглобин, Интраглобин, Биавен, Веноглобулин, Гамимун, Гаммар IV, Сандоглобин, Октагам
III.2 Препараты сверхмалых доз антител	Анаферон
III.3 Препараты моноклональных антител	Синагис, Мабтера, Ксолар
<b>IV. Иммунодепрессанты</b>	Метотрексат, азатиоприн, циклофосамид, селсепт, Элидел, сертикан, тимодепрессин
<b>V. Нуклеиновые кислоты</b> V.1 Естественные	Ридостин, натрия нуклеинат, Деринат
V.2 Синтетические	Полудан
<b>VI. Химически чистые</b> VI.1 Низкомолекулярные	Вобэнзим, Галавит, Глутоксим, Липоксид, Изопринозин, Имунорикс, Гепон, Копаксон-Тева, Имунофан, Тимоген
VI.2 Высокомолекулярные	Полиоксидоний

Иммуномодуляторы, избирательно действуют на то или иное звено иммунной системы, могут влиять и на другие звенья, то есть обладать способностью комбинированного действия. Большинство иммуномодуляторов способно оказывать воздействие и на неспецифический иммунитет (фагоцитоз, комплемент, миелопероксидазу, неспецифические катионные белки, лизоцим, продукцию интерферонов, защитные белки крови и т.д.).

В этом плане понятие иммунореабилитация имеет более широкое значение и включает применение иммуномодуляторов, оказывающих непосредственное влияние на иммунную систему, ме-

тодов экстраиммунного воздействия, способствующих восстановлению функции иммунной системы опосредованно.

*Иммунотерапевтические препараты при генитальных инфекциях*

За последние 25 лет накоплен определенный опыт иммунореабилитации в клинической практике, в частности при воспалительных заболеваниях женских половых органов различной этиологии. Среди применяемых для лечения заболеваний урогенитального тракта иммунотерапевтических средств можно выделить поликомпонентные терапевтические вакцины, неспецифические иммуномодуляторы, выделенные из бактериальных компонентов или имитирующих их. Поликомпонентные терапевтические вакцины представляют собой препараты, содержащие иммуногенные фрагменты бактериальных клеток основных возбудителей заболеваний мочевыводящих путей (Солкоуровак – 6 штаммов *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*; Уро-ваксом – 18 штаммов *E.coli*). Они воздействуют как на врожденное звено иммунитета, усиливая его функциональную активность за счет одновременной активации большого количества PRR (pattern recognition receptors) после введения в организм массивного количества PAMP-содержащих бактериальных фрагментов, так и на адаптивное, обеспечивая высокую антигенную нагрузку специфическими эпитопами бактерий возбудителей, что позволяет наработать достаточное количество специфических эффекторов и клеток памяти, оказывающих в дальнейшем протективный эффект. Подобные препараты используются преимущественно в комплексной терапии хронических и рецидивирующих инфекционных заболеваний урогенитального тракта. Наиболее известными препаратами, выделенными из бактериальных компонентов или имитирующими их, являются Пирогенал, Продигиозан и Ликопид.

Под влиянием вакцины поликомпонентной из условно-патогенных микроорганизмов и анатоксина стафилококкового очищенного у 83% женщин с воспалительными заболеваниями придатков матки происходило выздоровление с нормализацией содержания субпопуляций CD3+, CD4+, CD8+ и фагоцитарной функции нейтрофилов [360].

*Ликопид* – мурамилдипептид, синтетический аналог гидролизата клеточной стенки *Lactobacillus bulgaricus*. Основной мишенью липоида являются клетки макрофагально-фагоцитарного ряда, интенсифицирует практические все функции моноцитов и гранулоцитов: поглощение и киллинг микроорганизмов, синтез цитокинов. Эффективность липоида (10 мг в течение 20 дней) при генитальных инфекциях составила 86%.

*Бета-глюкан* - относится к семейству полисахаридов мономеров D-глюкозы, соединенных посредством бета-гликозидных связей, в молекуле которого глюкоза привязана к позициям 1 и 3, а также молекула имеет ответвления в позициях 1 и 6. Механизм действия бета-1,3/1,6- глюкана в общем виде может быть объяснен его выраженной селективностью в отношении специфических рецепторов (Dectin-1, Complement 3, Lactosylceramide и др.) на поверхности макрофагов, связывающихся только с неразветвленным участком молекулы бета-глюкана, в результате чего происходит активация макрофагов, что приводит к реализации триггерных механизмов целого ряда процессов, направленных на иммунную защиту организма. С одной стороны, активируется фагоцитарная функция макрофагов, с другой - начинают усиленно синтезироваться и высвобождаться такие вещества, как цитокины (интерлейкины, интерферон), являющиеся сигналом для других клеток иммунной системы, например Т-лимфоцитов, фактора роста эпидермальных клеток, фактора ангиогенеза [361].

С целью профилактики и лечения невыраженных иммунодефицитных состояний (ИДС) целесообразно применять иммуномодуляторы растительного происхождения – *адаптогены*. Одним из таких растений является эхинацея пурпурная (иммунорм, иммунал, эстифан). Действующим началом экстрактов эхинацеи являются гликаны. Гликаны являются стимуляторами дифференцировки и миграции макрофагов. Они способны усиливать фагоцитарную активность макрофагов, накопление ими свободных соединений кислорода, киллерные свойства, продукцию ИЛ-1 и фактора некроза опухоли, активируют В-лимфоциты и ицитотоксические Т-лимфоциты.

Пероральное применение энтеросорбента энтеросгеля, полифепамы обеспечивает адсорбцию из кишечника и влагалища токсических метаболитов, патогенных микроорганизмов и продукты

их жизнедеятельности, значительно повышая при этом эффективность заселения лактофлорой влагалища и кишечника [362].

Неотъемлемой частью терапии хронического сальпингоофорита является профилактика или устранение дисбиотических процессов. Для восстановления нормальной микрофлоры влагалища назначают интравагинально Гинолакт (лактобактерии *L. plantarum*), лактобактерин, бифидумбактерин, ацилакт.

Благодаря выраженному влиянию на ключевые патофизиологические процессы в организме *энзимотерапия* обладает противовоспалительным, фибринолитическим, иммуномодулирующим свойствами. Препараты системной энзимотерапии как трипсин, химотрипсин, химопсин, фестал, панзинорм, ораза, вобэнзим или флогэнзим, имозимаза повышают локальную концентрацию антибиотиков в зоне воспаления, увеличивают элиминацию тканевого детрита и депозитов фибрина в очаге воспаления, обеспечивают улучшение микроциркуляции и способствует уменьшению отека [363]. При применении системной энзимотерапии восстанавливается способность лейкоцитов продуцировать интерфероны в ответ на используемые индукторы [364, 365].

*Физиотерапевтические методы* также обладают иммуномодулирующим эффектом [366-372]. Ультрафиолетовое облучение в коротковолновом диапазоне на область наружных половых органов оказывает бактерицидное действие и бактериостатический эффект, обусловленный изменением реактивности облученных тканей, способствует выделению биологически активных веществ. Низкочастотный ультразвук, выпускаемым аппаратом «Гинетон», и термоконтрастная абсорбция лекарственного вещества позволяют добиться стойкой ремиссии хронического сальпингоофорита, санации и восстановления нормальной микрофлоры влагалища [366-367]. Наряду с благоприятным влиянием лечения на состояние регионарной гемодинамики, процессы стероидогенеза, функциональную активность маточных труб, отмечено улучшение иммунного статуса, что характеризовалось нормализацией Т- и В-клеточного звеньев иммунитета, перераспределением иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, восстановлением продукции IgG и IgM [367].

Включение *озона* в комплекс лечения ВЗПМ способствует более полной компенсации воспалительного процесса, нормализации

иммунного статуса и восстановлению репродуктивной функции в 1,6 раз [368].

Применение низкоинтенсивного *лазерного* излучения на фоне традиционной медикаментозной терапии дает хороший клинический эффект, уменьшает число рецидивов, восстановление нормальной микрофлоры отмечено в 95%, способствует активизации фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов периферической крови, приводит к нормализации энзиматических и ферментных систем этих клеток [135].

*Интерференционные токи* при трансцеребральном воздействии оказывают иммунокорригирующее влияние на клеточное и гуморальное звенья иммунной системы с устранением дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций [371].

В качестве лечебных факторов использовались гипербарическая оксигенация, лазеротерапия и влагалищная гипотермия в течение 10 дней. У 87,3% пациенток с хроническим сальпингоофоритом нормализовывалась температура тела, показатели крови.

Лечение больных с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий с помощью вдыхания газовой смеси, содержащей 11% кислорода (интервальная гипоксическая тренировка) выявило иммунокорригирующее действие гипоксии, которое реализуется на уровне субпопуляций Т-лимфоцитов [372].

Применение *природных минеральных вод* при гинекологической патологии оказывает интенсивное благоприятное воздействие на органном уровне и достаточно выраженный системный эффект [142]. На фоне сероводородных бальнеопроцедур отмечалось снижение исходно повышенного содержания лимфоцитов, повышение уровня Т-лимфоцитов, абсолютного числа Т-хелперов. Иммуномодулирующий эффект также был получен при использовании йодобромных ванн и орошений, заключающийся в возрастании абсолютного количества Т-лимфоцитов и хелперов.

При изучении бальнеохарактеристик минеральной кремнистой воды санатория «Коктем» было выявлено противовоспалительное, болеутоляющее и антиоксическое действие. При орошении влагалища кремнистой водой наблюдалось клиническое улучшение, нормализация бактериоскопической картины [373].

*Природные минералы*, в частности глинистые минералы, широко используются в медицине, являясь физиологичными метода-

ми эффективного воздействия на патологические очаги, не подавляющие естественные механизмы защиты. Опосредованный иммуномодулирующий эффект оказывают природные минералы, такие как тамбуил, бишофит, шунгит, цеолит, тагангель [374-376]. Местное их применение при хроническом сальпингоофорите способствует уменьшению воспалительной реакции и нормализации биоценоза влагалища. Терапевтический эффект минералов заключается в сорбционном действии, при котором вбираются продукты обмена и уменьшается воспалительная реакция, и с цитопротективным свойством, заключающемся в обволакивании слизистой влагалища на всем протяжении и образования биопленки, обладающую ионообменными свойствами.

В Казахстане имеются месторождения природных минералов разного состава [374]. Монтмориллонит является ярким представителем глинистых минералов и образует породы, известные под названием смектитовых, бентонитовых, фуллеровых веществ. Механизм лечебного действия их связан с сорбционным эффектом. Представителями их являются тагансорбент и шунгит. *Тагангель* – гелевая форма тагансорбента – натриевого монтмориллонита базальтового слоя Таганского месторождения Тарбагатайского района Восточно-Казахстанской области, представляет собой катионообменный комплекс с большим содержанием микроэлементов, которые входят в состав ферментных систем клеток, благотворно влияют на обменные процессы, оказывают иммуномодулирующее действие. Тагангель обладает высокой сорбционной активностью (390-460 мкмоль/л), не имеет противопоказаний, местно раздражающего действия и других побочных эффектов.

*Шунгит* - минерал на основе шунгитов месторождения Коксу, содержащий в своем составе углерод в форме соединения фуллеренов. После обогащения и активирования шунгит применяется в виде лечебной пасты, которая обладает уникальными сорбционными свойствами.

### ***Индукторы интерферона***

При сохранной способности к интерфероногенезу оправдано и целесообразно применение индукторов эндогенного интерферона. По современным представлениям индукторы ИФН являются группой веществ природного или синтетического происхождения, которые способствуют образованию в организме человека эндоген-

ного интерферона. Индукторами интерферонов являются большое количество синтетических (низкомолекулярных и полимерных) и природных соединений, официальные препараты (теофиллин, теобромин, дипиридамо́л, кофеин, папаверин, но-шпа, дибазол, кордарон, интенкордин). Природные индукторы представляют собой двуспиральные РНК, выделенные из фагов и дрожжей (ларифан, ридостин).

Также успешно применяют индукторы ИНФ – циклоферон, неовир, ридостин [376-380]. Особенно активен в этой группе амиксин, стимулирующий гуморальный иммунный ответ, тем самым, увеличивая продукцию IgM и IgG и восстанавливая соотношение CD4/CD8. При нарушениях клеточного и гуморального звеньев иммунитета подключаются полиоксидоний, миелопид. Большинство из них являются индукторами образования  $\alpha$ - и  $\beta$ -ИНФ. Некоторые из них индуцируют продукцию ИНФ клетками костного мозга и периферической крови (амиксин), другие стимулируют интерферогенез помимо лимфоидных органов и в головном мозге (гозалидон, камедон, ларифан). Курс лечения большинством индукторами интерферонов составляет не более 2-3 недель, на курс не более 7-10 инъекций. Подряд можно провести не более 4-5 курсов с 2-3 недельным интервалом. Это обусловлено необходимостью восстановления способности клеток к синтезу интерферонов. Индукторы интерферона широко применяются для лечения герпетической, цитомегаловирусной, хламидийной инфекции в сочетании с противовирусной (ацикловир) и антибактериальной терапией [380].

*Амиксин* - индуктор позднего альфа- и бета-интерферона, оказывает иммуномодулирующий эффект, стимулирует стволовые клетки костного мозга, усиливает антителообразование, осуществляет коррекцию соотношения хелперы/супрессоры. Применение амиксина при герпетической инфекции по 125 мг 1 раз в день 2 дня подряд в неделю, в течение 4 недель привело к сокращению длительности клинических проявлений болезни, повышению концентрации сывороточного интерферона в 4-6 раз.

*Неовир* - индуктор интерферона преимущественно альфа типа, способствующий активации клеточного иммунитета. Оказывает противовирусное действие в отношении ДНК и РНК-геномных вирусов. Обладает выраженным противохламидийным эффектом.

Иммуностимулирующее действие обусловлено активацией стволовых клеток костного мозга, Т-лимфоцитов, макрофагов. Неовир способен активировать натуральные киллеры. При урогенитальных хламидиозах, микоплазмозах, уреаплазмозах применяют курс лечения из 5-7 внутримышечных инъекций с интервалом в 48 часов с одновременным началом курса антибиотиков в день второй инъекции неовира. После окончания курса антибиотикотерапии рекомендуется повторное введение 5 инъекций неовира через 2 суток.

*Циклоферон* - синтетический аналог природного алкалоида *Citrus grandis*, обладающий свойствами индуктора интерферона. Нормализует иммунный ответ, стимулируя выработку интерферона, как при иммунодефицитах, так и при аутоиммунных заболеваниях. Циклоферон в дозе 250 мг индуцировал выработку раннего  $\alpha$ -ИНФ до 23,9 МЕ/мл. При применении 12,5% раствора циклоферона внутримышечно или внутривенно в разовой дозе 250 мг (2 мл) один раз в сутки в течение 2-х дней, а затем через день 5 инъекций при герпетической инфекции отмечен интерферониндуцирующий эффект с усилением продукции  $\alpha$ -ИНФ в 3,6 раза, нормализация показателей клеточного иммунитета. Эффективность применения циклоферона составила 84,4%, при хламидийной инфекции клинический эффект отмечен в 65,6% случаев.

*Полиоксидоний* обладает иммуномодулирующим, детоксицирующим, антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием. Воздействует на клетки моноцитарно-макрофагальной системы и, следовательно, влияет на функциональную активность всех звеньев защиты организма от инфекции. Препарат назначался в виде ректальных свечей по 6 мг ежедневно в течение 5 дней на ночь, а затем пять раз через день, курс состоял из 10 введений препарата. Применение полиоксидония при латентной ВПЧ-инфекции приводило к модуляции иммунного ответа, о чем свидетельствовало повышение уровня ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови и прекращение выделения ВПЧ 16-го и 18-го типов со слизистой цервикального канала.

*Деринат* (дезоксирибонуклеат натрия) – нативная ДНК, получаемая из молок осетровых и лососевых рыб. Препарат представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту, стимулирует лейко- и тромбопоэз, репаративные процессы, влияет на цитокиновый

баланс. Об успешной клинической эффективности Дерината при воспалительных заболеваниях половых органов, фибромиоме, эндометриозе сообщают многие авторы. При хронических воспалительных заболеваниях придатков матки 0,25% раствор дерината в течение 6-7 дней в виде орошения полости матки и введением тампона на 2 часа приводил к повышению количества Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, количества IgA-продуцирующих клеток. Локально использование Дерината повысило эффективность терапии более чем на 30% в сравнении с общепринятым лечением. Комплексное применение дерината, магнито-лазерного облучения и диквертина даёт наибольший клинический эффект [381].

*Индуктор интерферона бактериальный жидкий (ИИБЖ)*, содержащий бруцеллезный антиген в концентрации 106 интерфероногенных единиц на дозу препарата. В этой дозе индуцируется выработка эндогенного ИНФ с активностью от  $4,2 \pm 1,7$  до  $9,2 \pm 3,9$  МЕ/мл. В настоящее время препарат усовершенствован и содержит 107 интерфероногенных единиц, что способствует более высокой индукции ИНФ. ИИБЖ был успешно применен при генитальном герпесе [382].

*Гроприносин* (инозин пранобекс) – синтетическое производное пурина со свойствами иммуномодулятора и противовирусного средства. Инозин пранобекс ингибирует репликацию вирусов, подавляя синтез вирусной РНК, в тоже время повышает скорость транскрипции и трансляции РНК лимфоцитов. При ВПЧ-поражении шейки матки Гроприносин назначался в суточной дозе 50 мг/кг (500 мг на каждые 10 кг массы тела) в течение 5 дней 3 курсами с интервалом 2-4 недели, после деструкции шейки матки – по 2 таблетки (1000 мг) на протяжении 6 месяцев. Было достигнута нормализация измененных параметров иммунной системы в 90,4% случаев [383].

### ***Препараты цитокинов***

К средствам иммунозаместительной терапии относятся интерфероны. В настоящее время из нативных интерферонов широко применяется только лимфобластоидный интерферон- $\alpha$ , который получают путем стимуляции вирусом Sendai культуры лимфобластов Namalwa, полученных от больного лимфомой Беркитта. Значительно чаще в клинической практике применяются рекомбинантные интерфероны  $\alpha 2$ :  $\alpha 2a$ ,  $\alpha 2b$ ,  $\alpha 2c$ . Рекомбинантные препара-

ты являются продуктом воспроизводства только одного субтипа (одного гена), но обладают преимуществом безопасности применения, поскольку метод получения рекомбинантных препаратов исключает контаминацию вирусами и прионами, в том числе еще не изученными, в отличие от лимфоцитарных и лимфобластоидных препаратов интерферона. Препараты ИНФ являются, прежде всего, иммуномодуляторами, влияющими на процессы дифференцировки и функциональную активность иммунокомпетентных клеток и, прежде всего, Т-лимфоцитов, НК-клеток и моноцитов/макрофагов.

*Интерфероны* – это группа низкомолекулярных гликопротеидов, синтезируемых клеткой в процессе защитной реакции на чужеродную информацию – вирусную инфекцию, антигенное или митогенное воздействие и различающиеся по источнику выработки, структуре, физико-химическим свойствам, биологической активности. Известно более 28 интерферонов, составляющие более 7 видов ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\kappa$ ,  $\lambda$ ,  $\omega$ ), объединенные в три типа – I ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\kappa$ ,  $\omega$ ), II ( $\gamma$ ) и III ( $\lambda$ ) [384]. Система интерферона включает в себя гены, кодирующие выработку интерферонов, их репрессоры, сами интерфероны, специфические клеточные рецепторы к ним и ферментные системы, активизирующие при взаимодействии ИНФ с рецепторами. К ферментам, прежде всего, относятся 2',3'- олигоаденилатсинтетаза и протеинкиназа, которые блокируют репликацию вируса и повышают резистентность клетки.  $\gamma$ -ИНФ – продуцируется Т-лимфоцитами, в основном Т-хелперами, он является иммунным интерфероном, т. е. цитокином.

К настоящему времени можно считать обоснованным положение о центральной роли системы интерферона в поддержании гомеостаза. При инфекционном процессе, а также появлении антигенно-измененных клеток развивается каскад иммунных реакций, многие из которых опосредованы ИНФ в комплексе с другими медиаторами. Механизм коррекции системы ИНФ препаратами  $\alpha$ -интерферона можно объяснить через прайминг-эффект. Под действием  $\alpha$ -интерферона смягчаются реакции, протекающие по типу ГЗТ.

Из ИНФ-содержащих иммуномодуляторов используют рекомбинантный реаферон, виферон, лейкинферон, роферон, которые стимулируют Т-клеточное звено, увеличивают фагоцитарную

активность макрофагов, обладают противовирусной и противохламидийной активностью.

Доказано, что ИНФ, вводимые извне проявляют 2 группы эффектов относительно самой системы интерферонов: во-первых, интерферонотерапия – это заместительная противовирусная терапия в условиях дефицита эндогенного интерферона; во-вторых, экзогенные ИНФ усиливают синтез и секрецию эндогенных интерферонов всех классов. Таким образом, экзогенный ИНФ осуществляет непосредственное противовирусное действие (подавление репликации вируса), модулирует противовирусный иммунитет с эффектом усиления, влияя на 3 механизма противовирусной защиты – цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры и систему интерферона.

Таким образом, интерферон, с одной стороны, ингибирует репликацию вируса, с другой - активирует защитные силы организма, направленные на уничтожение инфицированных клеток и элиминацию возбудителя из организма. Под действием ИНФ повышается эффективность распознавания антигена, усиливается фагоцитарная и цитолитическая активность, направленные на элиминацию возбудителя или антигенно измененных клеток.

*Интерферон-альфа (Реаферон)* назначался 92 пациенткам с хроническим сальпингоофоритом. Число больных, выздоровевших в ближайшие сроки, повысилось с 49,3% (группа сравнения с медикаментозной терапией) до 64,1%, в отдаленные сроки – соответственно с 32,2 до 76,0%, число рецидивов уменьшилось с 28,8 до 8,4%.

*Реаферон-ЕС-липид* - липосомальная форма рекомбинантного интерферона  $\alpha 2b$ . Применение реаферона-ЕС-липид локально при герпес- и папилломавирусной инфекции гениталий привело к повышению эффективности традиционной терапии и уменьшению числа рецидивов. Наиболее эффективен препарат оказался при сохраненной функции иммунитета и интерфероновом статусе.

Для лечения урогенитальных инфекций оптимальной лекарственной формой являются интерфероны в виде суппозиторий, к ним относятся Виферон, Кипферон и Генферон. Особенности фармакокинетики интерферонов в форме суппозиторий позволяют обеспечить максимальную концентрацию ИНФа в органах и тканях малого таза, а также более длительное действие по сравне-

нию с инъекционными формами, что повышает их терапевтическую эффективность при лечении урогенитальной патологии [385-388].

*Консенсус-интерферон* (CINF) – это синтетический рекомбинантный интерферон, представляющий собой пептид, состоящий из набора определяющих аминокислот от нескольких субтипов  $\alpha$ -интерферона. Он обладает преимуществами рекомбинантных интерферонов (безопасность и селективность) и лимфобластоидных или природных интерферонов (разнообразие типов). Благодаря таким свойствам его клиническая эффективность резко возрастает, поскольку формула консенсус-интерферона значительно затрудняет "ускользание" мутантных штаммов вирусов от иммунного ответа [388].

*Суперлимф* представляет собой комплекс природных цитокинов, обладает широким спектром иммуномодулирующего действия на клетки, участвующие во врожденном иммунном ответе, воспалении и процессах регенерации. Препарат стимулирует фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов за счет активации ферментов фагоцитов НАДФН-оксидазы и NO-синтазы. Действие Суперлимфа направлено на подавление роста патогенных микроорганизмов и на регуляцию иммунных механизмов противомикробной защиты. При назначении суперлимфа ежедневно вагинально по 1 суппозиторию в течение 10 дней купирование основных симптомов герпетической инфекции происходило быстрее: если до лечения 88% больных имело по 3-4 рецидива, то после курса лечения суперлимфом у 70% отмечались единичные рецидивы, у 23,2% рецидивы отсутствовали. При назначении суперлимфа в дозе 1-5 мл в полость матки в течение 3-5 дней нормализация состояния больных эндометритом коррелировало с нормализацией функциональной активности лимфоцитов и нейтрофилов в полости матки, с изменением в сторону нормы концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови и смывах их полости матки [389].

*Ронколейкин* - это современный аналог эндогенного цитокина - интерлейкина-2 (ИЛ-2) человека. Рекомбинантный ИЛ-2 человека (Ронколейкин) функционирует как аналог естественного цитокина в сигнальных и эффекторных взаимодействиях компонентов иммунной системы и восполняет дефицит эндогенного цитокина

при вторичной иммунной недостаточности. Ронколейкин воздействует как на структурную (клеточную), так и на функциональную (регуляторную) составляющие иммунной системы. Отмеченная особенность наиболее важна, если препарат назначается при тяжело протекающей и хронической патологии, когда использование традиционных иммуномодуляторов или синтетических индукторов синтеза цитокинов не имеет смысла, поскольку истощены компенсаторные возможности иммунной системы [390]. ИЛ-2 избирательно активирует дифференцировку Тх1 субпопуляции Т-хелперов и служит дифференцировочным фактором для Т-цитотоксических клеток. Последствия такого воздействия на клетки проявляются позже, чем ростовой эффект, и для их возникновения необходимо участие и других цитокинов: ИЛ-4, 6, 7, 12. ИЛ-2 препятствует развитию толерантности к антигенам, «отменяя» в ряде случаев уже сформировавшуюся иммунную неотвечаемость, а также действует как один из ростовых факторов на предварительно активированные В-лимфоциты и усиливает синтез плазматическими клетками иммуноглобулинов М, G и А классов. Интегральный результат действия ИЛ-2 на названные типы клеток заключается в формировании адекватной иммунореактивности в условиях специфической активации. Именно поэтому данный интерлейкин можно считать одним из ключевых компонентов иммунной системы при ее функционировании в процессе формирования адаптивного иммунитета. ИЛ-2 способствует дифференцировке НК-клеток в лимфокин-активированные киллерные клетки (ЛАК-клетки), отличающиеся высокой цитолитической активностью и широким спектром действия.

Имеется обширный положительный опыт применения Ронколейкина при воспалительных заболеваниях женских половых органов [390]. Эффективность Ронколейкина была изучена при лечении УГХ. Ронколейкин использовали в виде внутривенных инъекций по 500000 МЕ на 10,0 мл изотонического раствора медленно. Всего больные получали 2-3 инъекции с интервалом 2-3 дня до начала этиотропной терапии. У пациентов, получавших ронколейкин, отмечено повышение содержания CD3+ и CD4+лимфоцитов, а также CD8+ по сравнению с пациентами, получавшими циклоферон. Повысилось содержание CD16+ и CD20+, а также клеток, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2 (CD25+). Клиническая и этио-

логическая излеченность составила при применении ронколейкина 94,9%, тогда как использование циклоферона эффективность составила 84%.

*Беталейкин* – препарат рекомбинантного интерлейкина 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), считается главным медиатором развития местной воспалительной реакции и острофазового ответа на уровне организма. Беталейкин является лекарственной формой рекомбинантного интерлейкина 1 $\beta$  человека, получаемого по генно-инженерной технологии. Благодаря широкому спектру биологической активности интерлейкин 1 $\beta$  служит одним из основных медиаторов развития защитных реакций организма. Беталейкин обладает способностью усиливать лейкопоз. Беталейкин обладает иммуностимулирующим действием, связанным с увеличением функциональной активности различных типов лейкоцитов. Введение в организм Беталейкина, с одной стороны, стимулирует неспецифическое звено иммунитета за счет усиления функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов (фагоцитоза и продукции кислородных радикалов), а с другой стороны, приводит к активации клеточного иммунитета, судя по увеличению пролиферации лимфоцитов, продукции ИЛ-2 и экспрессии рецепторов ИЛ-2, нарастанию числа лимфоцитов и НК-клеток, уровней ИФН $\gamma$  и других цитокинов [391].

Механизм иммуностимулирующего действия IL-1 $\beta$  связан с увеличением дифференцировки лимфоцитов и повышением их функциональной активности, а именно: усилением синтеза лимфоцитами IL-2, повышением IL-2-зависимой пролиферации, а также увеличением антителообразования. Таким образом, IL-1 $\beta$  обладает широким спектром биологических активностей: усиливает функциональную активность Т-клеточного звена иммунитета, увеличивает активность натуральных киллеров и опосредованно вызывает индукцию эндогенного интерферона в организме больного. При применении беталейкина в комплексной терапии 30 больных с хроническим осложненным урогенитальным хламидиозом в течение 5 дней в дозе 5 нг/кг полное клиническое излечение наступило у 90% больных, частичное - у 10%. Анализ иммунограмм выявил выраженное активирующее влияние Беталейкина на неспецифическое и клеточное звенья системы иммунитета [392].

### *Препараты антител*

Иммунобиологические препараты для иммунозамещения - иммуноглобулины применяются в особо тяжелых случаях инфекций. Иммуноглобулины связывают и нейтрализуют микробные антигены, токсины.

*Кипферон* - комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) содержит иммуноглобулины IgA и IgM против герпеса, хламидий, эшерихий, стафилококков, сальмонелл и рекомбинантный  $\alpha 2$ -интерферон. Иммуноглобулины, связываясь с компонентом, вызывают лизис бактерий. Кипферон относится к группе новых иммунокорректоров, обладающих как местным, так и системным воздействием на организм, формируя напряженность противовирусного, противохламидийного и антибактериального иммунитета. Применение кипферона в форме суппозитория позволяет воздействовать не только на механизмы местного иммунитета, но и на общую иммунологическую реактивность организма за счет всасывания ИНФ, а также активации иммунокомпетентных клеток в месте аппликации препарата [393]. Проведена клиническая оценка эффективности свечей с кипфероном в комплексной терапии хламидийной и уреоплазменной инфекции у женщин репродуктивного возраста. При местной иммунотерапии лечебный эффект осуществляется в основном за счет влияния на регионарную лимфоидную ткань, находящуюся в очаге воспаления. При таком способе иммунотерапии уменьшается общее резорбтивное действие препарата на организм, достигается наиболее интенсивное влияние иммунотропного вещества на местные факторы иммунитета, которые играют ведущую роль в патологическом процессе [394].

*Октагам* - является препаратом человеческого нормального иммуноглобулина и содержит, в основном, иммуноглобулины класса G с широким спектром антител к возбудителям различных инфекций. Распределение подклассов иммуноглобулина G в препарате практически такое же, как и в естественной человеческой плазме: 60% IgG1, 32% IgG2, 7% IgG3 и 1% IgG4. Эффективные дозы препарата могут восстановить низкий уровень иммуноглобулина G до его нормального значения. Рекомендуемая доза составляет 0,2-0,4 г/кг каждые 4 недели до достижения уровня IgG в плазме не менее 5 г/л.

### *Ингибиторы иммунных контрольных точек*

Действие ингибиторов ИКТ основано на блокаде сигнальных путей CTLA-4 и PD-1/PD-L1, контролирующих разные этапы иммунного ответа.

Препараты первой группы (ипилиумаб) блокируют связывание рецептора CTLA-4 на поверхности Т-лимфоцита с молекулой В7 на поверхности АПК, что приводит к снижению отрицательной регуляции и позволяет реализоваться уже существующему иммунному ответу.

Препараты второй группы (ниволумаб и пембролизумаб) блокируют связывание рецептора PD-1 лимфоцитов и моноцитов с лигандами PD-L1 и PD-L2, тем самым усиливая иммунный ответ.

Препараты третьей группы (атезолизумаб, авелумаб и дурвалумаб) селективно блокируют лиганд PD-L1. Лиганды PD-L1 и PD-L2 рецептора PD-1 экспрессируются на поверхности клеток периферических тканей организма, в том числе и на клетках опухоли. Селективная блокада взаимодействий между PD-L1 и PD-1 приводит к усилению противоопухолевого иммунного ответа, который может привести к элиминации опухоли.

Сигнальные пути CTLA-4 и PD-1/PD-L1 регулируют активность Т-лимфоцитов с помощью двух различных механизмов. Сигнальный путь CTLA-4 контролирует активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов в лимфатических узлах на начальных стадиях иммунного ответа, тогда как сигнальный путь PD-1 регулирует активность Т-лимфоцитов в периферических тканях, то есть в фактическом месте опухоли. Поэтому можно одновременно применять ингибиторы ИКТ разных групп для достижения аддитивного или синергетического эффекта. Однако применение комбинированных схем лечения сопровождается повышением частоты развития и расширением спектра иммуноопосредованных нежелательных реакций по сравнению с монотерапией [395,396].

Считается, что развитие иоНР является результатом аутореактивного иммунного ответа в отношении здоровых тканей вследствие избыточной стимуляции иммунологической реактивности (гиперактивация Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и высвобождение цитокинов) [397-398]. Органами-мишенями для аутоиммунного воспаления, вызванного применением ингибиторов ИКТ, могут быть кожа, желудочно-кишечный тракт, печень, легкие и эндо-

кринные железы. Кроме того, описаны случаи поражения других органов и систем, при этом аутоиммунные процессы могут быть множественными и сопровождаться развитием тяжелых угрожающих жизни осложнений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди гинекологической патологии воспалительные заболевания репродуктивного тракта занимают ведущее место. Длительная персистенция инфектов приводит к иммунопатологическим реакциям, являющимся пусковым механизмом нарушения репродуктивной функции – невынашивания и бесплодия.

Кроме того, хроническая ановуляция как результат воспалительного процесса в придатках матки сопровождается сдвигами гормонального, цитокинового статуса, изменением межклеточных взаимодействий, нарушением апоптоза, и как следствие, приводит к снижению основной функции иммунной системы – иммунологического надзора с развитием пролиферативных процессов, ведущих к миоме матки, эндометриозу и гиперплазии эндометрия.

Избыточную пролиферацию связывают не только с гиперэстрогенией, нарушениями экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, но и с выраженным влиянием биологически активных веществ, стимулирующих пролиферативную активность, а также с нарушением генетических механизмов регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза.

Достижения в молекулярной биологии, клинической иммунологии и медицинской генетике в последние годы позволили расширить представление о клеточном взаимодействии и процессах внутри клеток.

Межклеточные соединения в эндометрии очень специфичны и регулируют процессы, происходящие при физиологических изменениях в эндометрии, а также при патологических состояниях. Несмотря на их специфическую функцию в межклеточном взаимодействии, они могут регулировать сигнальные пути, тем самым влияя на экспрессию генов в различных компартаментах ткани эндометрия.

Важным элементом межклеточных коммуникаций являются процессы, происходящие внутри самих клеток, так как они опосредуют биосинтез медиаторных молекул, проведение сигналов в клетке. Клетки способны передавать друг другу рецепторные молекулы вместе с фрагментами плазматической мембраны посредством внеклеточных везикул. Микровезикулы представляют собой

источник большого количества различных иммунологически активных молекул, которые, воздействуя на клетки, могут регулировать различные процессы, происходящие в организме, в том числе воспаление, коагуляцию, презентацию антигенов, апоптоз, то есть могут участвовать в патогенезе различных заболеваний и воспалительных процессов.

Биоинформационный анализ сигнальных путей и процессов, основанный на транскриптомных данных, показал, что в составе микровезикул и экзосом могут действовать малые некодирующие РНК – микроРНК, которые играют роль посттранскрипционных репрессоров за счет взаимодействия с мишенями матричной РНК (мРНК), что приводит либо к деградации соответствующей мРНК, либо к остановке трансляции. Таким образом, микроРНК способны регулировать экспрессию более 60% генов, кодирующих белок, и участвуют в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки, воспаления, апоптоза, гемопоэза и онкогенеза.

С открытием *immune checkpoints* (иммунных контрольных точек), в норме служащих для предотвращения аутоиммунного повреждения тканей, появилась возможность их ингибировать моноклональными антителами для реализации цитотоксического потенциала Т-лимфоцитов.

Таким образом, изучение многоуровневых молекулярных взаимодействий, а также выявления компонентов сигнальных путей, участвующих в развитии пролиферативных процессов, является перспективным направлением, позволяющим выявить возможные терапевтические мишени для лечения ведущей гинекологической патологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Полевщиков А.В. Методологические аспекты современной иммунологии // Биомедицинский журнал Medline.ru
2. Снимщикова И.А. Курс лекций по общей иммунологии. – Орел, 2015. – 122 с.
3. Иммунологическая Нобелевская премия (2011) <https://biomolecula.ru/articles/immunologicheskaja-nobelevskaja-premiia-2011>
4. Кулаков В.И. Инфекции, передаваемые половым путем // Акушерство, гинекология. - 2003. – № 6. - С.3-5.
5. Russell P. et al. The distribution of immune cells and macrophages in the endometrium of women with recurrent reproductive failure. III: Further observations and reference ranges // Pathology. 2013 Jun; 45(4):393-401.
6. Рюмин Д.В. Особенности микробиоценоза половых путей больных урогенитальным хламидиозом // Вестн. Рос. Ассоц. акушеров-гинекологов. - 1997. - № 2. - С. 29-30.
7. Костючек Д.Ф., Рукояткина Е.А. Микрофлора женских половых органов при различных воспалительных заболеваниях // Журн. акушерства и женских болезней: Спец. вып. – СПб, 1998. – С. 84-85.
8. Кира Е.Ф. Инфекции и репродуктивное здоровье // Журнал акушерства и женских болезней. – 2000. – С. 1-40.
9. Roitts's essential immunology // P.J. Delves, S.J. Martin, D.R. Burton, I. M. Roitt. – Thirteen edition, 2017. – 578 p.
10. Новиков Д.К. Клиническая иммунология. Учебное пособие/ Д.К. Новиков// Витебск: ВГМУ, 2006. - 392 с.
11. Рамазанова Б.А. Состояние микрофлоры, неспецифической резистентности половых путей женщин, использующих контрацептивы и возможности коррекции нарушений: автореф ... д.м.н. – Алматы, 2002. - 49 с.
12. Мелкумян, А.Р. Влагилищные лактобактерии - современные подходы к видовой идентификации и изучению их роли в микробном сообществе / А.Р. Мелкумян, Т.В. Припутневич // Акушерство и гинекология. – 2013. – №7. – С. 18 – 23.
13. Баранов, И.И. Экология влагилища и воспалительные заболевания половых органов / И.И. Баранов // Гинекология. –2010. – Т. 12, №3.– С. 4–6.
14. Буданов, П.В. Единые (универсальные) принципы санации влагилища / П.В. Буданов, М.А. Стрижакова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – Т.5, №4. – С. 84–88.
15. Балан, В.Е. Рецидивирующий бактериальный вагиноз – возможность увеличения продолжительности ремиссии / В.Е. Балан, Е.В. Тихо-

мирова, В.В.Овчинникова // Акушерство и гинекология. – 2017. – №1. – С. 83–88.

16. Ворошилаина, Е.С. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? / Е.С. Ворошилаина, Л.В. Тумбинская, А.Е. Донников // Акушерство и гинекология. – 2011. – №1. – С.57–65.

17. Иммуноморфологическое исследование эндометрия при хроническом хламидийном сальпингооофите / Л.Б. Дрыгина, Д.Ф. Костючек, Е.А. Михина и др.// Журн. акушерства и женских болезней. – 2011. – Т. LX, №1. – С. 83–86.

18. Лечение гнойно-септических гинекологических заболеваний и их профилактика / Буянова С. Н., Краснопольский В. И., Мгелиашвили М. В. и др.// Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007. – №1. – С. 63–68.

19. Долгушина, В.Ф. Местный иммунитет половой системы у беременных с генитальной инфекцией / В.Ф. Долгушина, И.И. Долгушин, Л.Ф. Телешева // Журн. микробиологии. – 2000. – №2. – С. 92–95.

20. Баев, О.Р. Резидентная флора генитального тракта и этиология инфекционных осложнений беременности и послеродового периода / О.Р. Баев // Акушерство и гинекология. – 1997. – №6. – С. 3–7.

21. Лобзин Ю.В. Учение об инфекционных болезнях: прошлое, настоящее, будущее // Журнал инфектологии. – 2013. – Том 5 , № 3. – с. 15.

22. Manaster I., Mandelboim O. The unique properties of uterine NK cells // Am.J. Reprod. Immunol. - 2010. - Vol. 63. - P. 434-444

23. Lanier L.L. NK cell recognition // Ann. Rev. Immunol. - 2005. - Vol. 23. - P. 225-274.

24. Duerst R. Innate immunity to herpes simplex virus type 2. // Viral Immunology. - 2003. - 16 (4). – P.475-490.

25. Yasin B., Pang M., Turner J. et al. Evaluation of inactivation of infections HSV by host-defense peptides // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2000. – N 19. - P. 187-194.

26. Патогенетические подходы к иммунокоррекции герпетической инфекции / Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Лавров В.Ф., Баркевич О.А. // Аллергология и иммунология. - 2006. – Том 7. - № 1. – С. 4-9.

27. Melroe G.T., DeLuca N.A., Knipe D.M. Herpes simplex virus type 1 has multiple mechanisms for blocking virus induced interferon production // Virol. - 2004. - N 78(16). – P. 8411-8420.

28. Долгушин И.И., Телешева Л.Ф., Савочкина А.Ю., Маркина О.В. Провоспалительные цитокины цервикального секрета и сыворотки крови у женщин с генитальной инфекцией // Журнал микробиологии. - 2004. - № 4. – С. 12-16.

29. Батрак М.В., Сотникова Н.Ю. Сравнительная характеристика

продукции цитокинов фагоцитарными клетками на системном и локальном уровне у здоровых фертильных женщин // Цитокины и воспаление. - 2002. - № 2. – С. 14.

30. Seshadri S, Sunkara SK. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2014, May-Jun;20(3):429-38.

31. The distribution of CD56dimCD16+ and CD56brightCD16-cells are associated with prolactin levels during pregnancy and menstrual cycle in healthy women / Martinez-Garcia E.A. [et al.] // *Am. Journal Reprod. Immunol.* - 2011. - Vol. 65. - P. 433–437.

32. Grund et al. Direct Cell–Cell Interactions in the Endometrium and in Endometrial Pathophysiology // *Int J Mol Sci.* 2018

33. Volker et al. Redistribution of adhering junctions in human endometrial epithelial cells during the implantation window of the menstrual cycle // *Histochem Cell Biol.* 2012

34. Saito et al. Co-ordinated expression of connexins 26 and 32 in human endometrial glandular epithelium during the reproductive cycle and the influence of hormone replacement therapy // *Int J Cancer.* 1997

35. Jahn et al. Expression of gap junction connexins in the human endometrium throughout the menstrual cycle // *Hum Reprod.* 1995

36. Evans et al. Fertile ground: human endometrial programming and lessons in health and disease // *Nature Reviews Endocrinology.* 2016

37. Wang et al. Chapter 2 - mTOR: The Master Regulator of Conceptus Development in Response to Uterine Histotroph During Pregnancy in Ungulates // *Translating Critical Pathways Into Novel Therapeutic Strategies.* 2016

38. Massimiani et al. Molecular Signaling Regulating Endometrium–Blastocyst Crosstalk // *Int. J. Mol. Sci.* 2020

39. Маркова К.Л., Коган И.Ю., Шевелева А.Р., Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И. Микровезикулы лейкоцитарного происхождения. *Вестник РАМН.* 2018;73(6):378–387

40. Daubeuf S, Aucher A, Bordier C, et al. Preferential transfer of certain plasma membrane proteins onto T and B cells by trogocytosis. *PLoS One.* 2010;5(1):e8716.

41. Sedgwick AE, D’Souza-Schorey C. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic.* 2018;19(5):319–327.

42. Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular vesicles in angiogenesis. *Circ Res.* 2017;120(10):1658–1673.

43. Sokolov DI, Ovchinnikova OM, Korenkov DA, et al. Influence of peripheral blood microparticles of pregnant women with preeclampsia on the phenotype of monocytes. *Transl Res.* 2016;170:112–123.

44. Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ Res.* 2012;110(2):356–369.

45. György B, Szabó T, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(16):2667–2688.
46. Distler JH, Huber LC, Gay S, et al. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity.* 2006;39(8):683–690.
47. Halim AT, Ariffin NA, Azlan M. Review: the multiple roles of monocyte microparticles. *Inflammation.* 2016;39(4):1277–1284.
48. Mikhailova VA, Ovchinnikova OM, Zainulina MS, et al. Detection of microparticles of leukocytic origin in the peripheral blood in normal pregnancy and preeclampsia. *Bull Exp Biol Med.* 2014;157(6):751–756.
49. Bernimoulin M, Waters EK, Foy M, et al. Differential stimulation of monocytic cells results in distinct populations of microparticles. *J Thromb Haemost.* 2009;7(6):1019–1028.
50. Timar CI, Lorincz AM, Csepanyi-Komi R, et al. Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes. *Blood.* 2013;121(3):510–518.
51. Johnson BL, Kuethe JW, Caldwell CC. Neutrophil derived microvesicles: emerging role of a key mediator to the immune response. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2014;14(3):210–217.
52. van der Pol E, Hoekstra AG, Sturk A, et al. Optical and nonoptical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes. *J Thromb Haemost.* 2010;8(12):2596–2607.
53. van der Pol E, Coumans FA, Grootemaat AE, et al. Particle size distribution of exosomes and microvesicles determined by transmission electron microscopy, flow cytometry, nanoparticle tracking analysis, and resistive pulse sensing. *J Thromb Haemost.* 2014;12(7):1182–1192.
54. Pugholm LH, Baek R, Sondergaard EK, et al. Phenotyping of leukocytes and leukocyte-derived extracellular vesicles. *J Immunol Res.* 2016;2016:6391264.
55. Gasser O, Schifferli JA. Microparticles released by human neutrophils adhere to erythrocytes in the presence of complement. *Exp Cell Res.* 2005;307(2):381–387.
56. Yang JM, Gould SJ. The cis-acting signals that target proteins to exosomes and microvesicles. *Biochem Soc Trans.* 2013;41(1):277–282.
57. Dalli J, Montero-Melendez T, Norling LV, et al. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12(8):2205–2219.
58. Gasser O, Schifferli JA. Activated polymorphonuclear neutrophils disseminate anti-inflammatory microparticles by ectocytosis. *Blood.* 2004;104(8):2543–2548.

59. Gasser O, Hess C, Miot S, et al. Characterisation and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils. *Exp Cell Res.* 2003;285(2):243–257.
60. Lacy P. A new way of trapping bugs: neutrophil microvesicles. *Blood.* 2013;121(3):420–421.
61. Pluskota E, Woody NM, Szpak D, et al. Expression, activation, and function of integrin alphaMbeta2 (Mac-1) on neutrophil-derived microparticles. *Blood.* 2008;112(6):2327–2335.
62. Hong Y, Eleftheriou D, Hussain AA, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies stimulate release of neutrophil microparticles. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(1):49–62.
63. Lim K, Sumagin R, Hyun YM. Extravasating neutrophil-derived microparticles preserve vascular barrier function in inflamed tissue. *Immune Netw.* 2013;13(3):102–106.
64. Pliyev BK, Kalintseva MV, Abdulaeva SV, et al. Neutrophil microparticles modulate cytokine production by natural killer cells. *Cytokine.* 2014;65(2):126–129.
65. Eken C, Gasser O, Zenhausern G, et al. Polymorphonuclear neutrophil-derived ectosomes interfere with the maturation of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2008;180(2):817–824.
66. Dalli J, Norling LV, Renshaw D, et al. Annexin 1 mediates the rapid anti-inflammatory effects of neutrophil-derived microparticles. *Blood.* 2008;112(6):2512–2519.
67. Torgersen C, Moser P, Luckner G, et al. Macroscopic postmortem findings in 235 surgical intensive care patients with sepsis. *Anesth Analg.* 2009;108(6):1841–1847.
68. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood.* 2010;116(16):e74–80.
69. Egorina EM, Sovershaev MA, Olsen JO, Osterud B. Granulocytes do not express but acquire monocyte-derived tissue factor in whole blood: evidence for a direct transfer. *Blood.* 2008;111(3):1208–1216.
70. Aharon A, Tamari T, Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells. *Thromb Haemost.* 2008;100(5):878–885.
71. Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, Lopez JA. Tissuefactor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood.* 2005;106(5):1604–1611.
72. Mezziani F, Delabranche X, Asfar P, Toti F. Bench-to bedside review: circulating microparticles - a new player in sepsis? *Crit Care.* 2010;14(5):236.
73. Leroyer AS, Rautou PE, Silvestre JS, et al. CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and

angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(16):1302–1311.

74. Mayr M, Grainger D, Mayr U, et al. Proteomics, metabolomics, and immunomics on microparticles derived from human atherosclerotic plaques. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2(4):379–388.

75. Sarkar A, Mitra S, Mehta S, et al. Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PLoS One.* 2009;4(9):e7140.

76. Essayagh S, Xuereb JM, Terrisse AD, et al. Microparticles from apoptotic monocytes induce transient platelet recruitment and tissue factor expression by cultured human vascular endothelial cells via a redox-sensitive mechanism. *Thromb Haemost.* 2007;98(4):831–837.

77. Wen B, Combes V, Bonhoure A, et al. Endotoxin-induced monocytic microparticles have contrasting effects on endothelial inflammatory responses. *PLoS One.* 2014;9(3):e91597.

78. Mastronardi ML, Mostefai HA, Soleti R, et al. Microparticles from apoptotic monocytes enhance nitrosative stress in human endothelial cells. *Fundam Clin Pharmacol.* 2011;25(6):653–660.

79. Bardelli C, Amoruso A, Federici Canova D, et al. Autocrine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPAR $\gamma$  ligands. *Br J Pharmacol.* 2012;165(3):716–728.

80. Neri T, Armani C, Pegoli A, et al. Role of NF- $\kappa$ B and PPAR $\gamma$  in lung inflammation induced by monocytederived microparticles. *Eur Respir J.* 2011;37(6):1494–1502.

81. Aleman MM, Gardiner C, Harrison P, Wolberg AS. Differential contributions of monocyte- and platelet-derived microparticles towards thrombin generation and fibrin formation and stability. *J Thromb Haemost.* 2011;9(11):2251–2261.

82. Distler JH, Jungel A, Huber LC, et al. The induction of matrix metalloproteinase and cytokine expression in synovial fibroblasts stimulated with immune cell microparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(8):2892–2897.

83. Takeshita J, Mohler ER, Krishnamoorthy P, et al. Endothelial cell-, platelet-, and monocyte/macrophage-derived microparticles are elevated in psoriasis beyond cardiometabolic risk factors. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(1):e000507.

84. Baka Z, Senolt L, Vencovsky J, et al. Increased serum concentration of immune cell derived microparticles in polymyositis/dermatomyositis. *Immunol Lett.* 2010;128(2):124–130.

85. Nagahama M, Nomura S, Kanazawa S, et al. Significance of anti-oxidized LDL antibody and monocyte-derived microparticles in anti-phospholipid antibody syndrome. *Autoimmunity*. 2003;36(3):125–131.

86. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*. 2010;116(16):e74–80.

87. Ярилин А.А. Иммунология. Учебник. — М.: ГЭОТРА-Медиа; 2010. — 752 с.

88. Soleti R, Benameur T, Porro C, et al. Microparticles harboring Sonic Hedgehog promote angiogenesis through the upregulation of adhesion proteins and proangiogenic factors. *Carcinogenesis*. 2009;30(4):580–588.

89. Agouni A, Mostefai HA, Porro C, et al. Sonic hedgehog carried by microparticles corrects endothelial injury through nitric oxide release. *FASEB J*. 2007;21(11):2735–2741.

90. Yang C, Mwaikambo BR, Zhu T, et al. Lymphocytic microparticles inhibit angiogenesis by stimulating oxidative stress and negatively regulating VEGF-induced pathways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(2):R467–476.

91. Shefler I, Salamon P, Reshef T, et al. T cell-induced mast cell activation: a role for microparticles released from activated T cells. *J Immunol*. 2010;185(7):4206–4212.

92. Lugini L, Cecchetti S, Huber V, et al. Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes. *J Immunol*. 2012;189(6):2833–2842.

93. Михайлова В.А., Белякова К.Л., Вязьмина Л.П., и др. Определение микровезикул, образуемых НК-клетками, методом проточной цитофлуориметрии // Медицинская иммунология. - 2018. - Т.20. - №2 - С. 251–254.

94. Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK. Mechanisms of human autoimmunity. *J Clin Invest*. 2015;125(6):2228–33.

95. Sharon E. et al. Immune checkpoint inhibitors in clinical trials // Chinese journal of cancer. – 2014. – Т. 33. – №. 9. – С. 434.

96. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(4):227–42.

97. Насонов ЕЛ. Ингибция иммунных контрольных точек и аутоиммунитет: ревматологические проблемы. Научно-практическая ревматология. 2018;56(1):5–9.

98. Thommen DS, Schumacher TN. T cell dysfunction in cancer. *Cancer Cell*. 2018;33(4):547–62.

99. DeVita VT Jr, Rosenberg SA. Two hundred years of cancer research. *N Engl J Med*. 2012;366(23):2207–14.

100. Kirkwood JM, Butterfield LH, Tarhini AA, Zarour H, Kainski P, Ferrone S. Immunotherapy of cancer in 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012;62(5):309–35.

101. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:235–71.
102. Насонов ЕЛ. Ингибция иммунных контрольных точек и аутоиммунитет: ревматологические проблемы. *Научно-практическая ревматология.* 2018;56(1):5–9.
103. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):252–64.
104. Лепик КВ. Ингибиторы иммунных контрольных точек в терапии лимфом. *Клиническая онкогематология* 2018;11(4):303–12.
105. Callahan MK, Wolchok JD. At the bedside: CTLA-4- and PD-1-blocking antibodies in cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol.* 2013;94(1):41–53.
106. Poprach A, Lakomý R, Büchler T. Immunotherapy of renal cell carcinoma. *Klin Onkol.* 2017;30(S3):55–61.
107. Sakamuri D, Glitza IC, Betancourt Cuellar SL, Subbiah V, Fu S, Tsimberidou AM, et al. Phase I dose-escalation study of anti-CTLA-4 antibody ipilimumab and lenalidomide in patients with advanced cancers. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(3):671–6.
108. Simmons D, Lang E. The most recent oncologic emergency: what emergency physicians need to know about the potential complications of immune checkpoint inhibitors. *Cureus.* 2017;9(10):e1774.
109. Calvo CR, Amsen D, Kruisbeek AM. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) interferes with extracellular signal-regulated kinase (ERK) and Jun NH2-terminal kinase (JNK) activation, but does not affect phosphorylation of T cell receptor zeta and ZAP70. *J Exp Med.* 1997;186(10):1645–53.
110. Carreno BM, Bennett F, Chau TA, Ling V, Luxenberg D, Jussif J, et al. CTLA-4 (CD152) can inhibit T cell activation by two different mechanisms depending on its level of cell surface expression. *J Immunol.* 2000;165(3):1352–6.
111. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:677–704.
112. Lee SJ, Jang BC, Lee SW, Yang YI, Suh SI, Park YM, et al. Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN-gamma-induced upregulation of B7-H1 (CD274). *FEBS Lett.* 2006;580(3):755–62.
113. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczkowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- $\gamma$  and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood.* 2007;110(1):296–304.

114. Fife BT, Pauken KE, Eagar TN, Obu T, Wu J, Tang Q, et al. Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat Immunol.* 2009;10(11):1185–92
115. Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med.* 2012;209(6):1201–17.
116. Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol.* 2004;173(2):945–54.
117. Nurieva R, Thomas S, Nguyen T, Martin-Orozco N, Wang Y, Kaja MK, et al. T-cell tolerance or function is determined by combinatorial costimulatory signals. *EMBO J.* 2006;25(11):2623–33.
118. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med.* 2002;8(8):793–800
119. Саяпина МС. Иммунорегуляторные функции ингибиторов PD-1/PD-L1 и развитие к ним резистентности. Злокачественные опухоли. 2017;(2):94–9.
120. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of anti-tumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996;271(5256):1734–6.
121. Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016;13(5):273–90.
122. Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. *N Engl J Med.* 2016;375(18):1767–78.
123. Южакова ДВ, Ширманова МВ, Сергеева ТФ, Загайнова ЕВ, Лукьянов КА. Иммуноterapia злокачественных новообразований (обзор). *Современные технологии в медицине.* 2016;8(1):173–82
124. Campoli M, Ferrone S. HLA antigen changes in malignant cells: epigenetic mechanisms and biologic significance. *Oncogene.* 2008;27(45):5869–85.
125. Болотина ЛВ, Каприн АД. Иммуноонкология: новые возможности лекарственной терапии солидных опухолей. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2017;6(5):74–80.
126. Merelli B, Massi D, Cattaneo L, Mandalà M. Targeting the PD1/PD-L1 axis in melanoma: biological rationale, clinical challenges and opportunities. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014;89(1):140–65.
127. Румянцев АГ, Тюлядин СА. Эффективность ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в лечении солидных опухолей. *Практическая онкология.* 2016;17(2):74–89.

128. Ross K, Jones RJ. Immune checkpoint inhibitors in renal cell carcinoma. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131(21):2627–42.
129. Ott PA, Hodi FS, Robert C. CTLA-4 and PD-1/PD-L1 blockade: new immunotherapeutic modalities with durable clinical benefit in melanoma patients. *Clin Cancer Res*. 2013;19(19):5300–9.
130. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):278–87.
131. Melero I, Hervas-Stubbs S, Glennie M, Pardoll DM, Chen L. Immunostimulatory monoclonal antibodies for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(2):95–106.
132. Dillman RO. Cancer immunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm*. 2011;26(1):1–64.
133. Mahoney KM, Freeman GJ, McDermott DF. The next immune checkpoint inhibitors: PD-1/PD-L1 blockade in melanoma. *Clin Ther*. 2015;37(4):764–82.
134. Niezgodna A, Niezgodna P, Czajkowski R. Novel approaches to treatment of advanced melanoma: a review on targeted therapy and immunotherapy. *Biomed Res Int*. 2015;2015:851387.
135. Martins F, Sofiya L, Sykiotis GP, Lamine F, Maillard M, Fra-ga M, et al. Adverse effects of immune-checkpoint inhibitors: epidemiology, management and surveillance. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019;16(9):563–80.
136. Савельева Г.М., Евсеева А.А., Бреусенко В.Г. и соавт. Современные аспекты острых воспалительных заболеваний внутренних половых органов // Журнал акушерства и женских болезней. – 1998. - № 2. – С. 35.
137. Железникова Г.Ф. Оценка иммунного статуса при острых инфекционных заболеваниях: новый методологический подход // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - № 1. – С. 18-21.
138. Радионченко А.А., Иванова Т.В., Дыгай А.М. и др. Состояние фагоцитарной системы нейтрофилов в комплексной терапии острого сальпингоофорита использованием (сухого) пантогаматогена // Журн. акушерства и женских болезней: Спец. вып. – СПб., 1998. – С. 34-35.
139. Линева О.И., Турина Е.В. Иммунологические аспекты персистирующего урогенитального хламидиоза // Журн. акушерства и женских болезней. - Спец. вып. - СПб., 1998. – С. 63.
140. Медведев Б.Т., Теплова С.Н., Узлова Т.В. Показатели гуморального иммунитета у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием // Журн. акушерства и женских болезней. - Спец. вып. - СПб., 1998. – С. 31-32.

141. Хамадянова А.У. Человеческий лейкоцитарный интерферон-альфа и эубиотики в комплексном лечении и реабилитации больных хроническим сальпингоофоритом и бактериальным вагинозом // Журн. акушерства и женских болезней: Спец. вып. – СПб., 1998. - С. 95.
142. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофагах - Новосибирск: Наука, 1989. - 343 с.
143. Медведев Б.И., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л. Особенности местного иммунитета при ассоциированных с хламидиями хронических воспалительных заболеваниях органов малого таза женщин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2000. - № 2. – С. 89-92.
144. Fichorova R.N., Anderson D.J. Differential expression of immunobiological mediators by immortalized human cervical and vaginal epithelial cells // Biol. Reprod.- 1999. - Vol. 60, N 2.- P. 508-514.
145. Mamedalievа N.M., Lokshin V.N., Kurmanova A.M. Integrated assessment of immunity and approaches to the differentiated immunocorrection at recurrent pregnancy loss // Gynecological Endocrinology, 2015, Volume 31, October - P. 55-57.
146. Fichorova R.N., Anderson D.J. Differential expression of immunobiological mediators by immortalized human cervical and vaginal epithelial cells // Biol. Reprod. - 1999. - Vol. 60, N 2.- P. 508-514.
147. Medaglini D., Rush CM., Sestini P., Pozzi G. Commensal bacteria as vectors for mucosal vaccines against sexually transmitted diseases: vaginal colonization with recombinant streptococci induces local and systemic antibodies in mice // Vaccine.- 1997.- Vol. 15, N 12-13. - P. 1330-1337.
148. Quesnel A., Cu-Uvin S., Murphy D. et al. Comparative analysis of methods for collection and measurement of immunoglobulins in cervical and vaginal secretions of women // J. Immunol. Methods.- 1997.- Vol. 202, N2.-P.153-161.
149. Fidel P.L. Jr., Wolf N.A., KuKuruga M.A. T lymphocytes in the murine vaginal mucosa are phenotypically distinct from those in // Infect. Immun. - 1996. - Vol. 64, N 9. - P. 3793-3799.
150. Bardeguеz A.D., Skurnick J.H., Perez G. et al. Lymphocyte shedding from genital tract of human immunodeficiency virus-infected women: immunophenotypic and clinical correlates // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1997. -Vol. 176, N 1. - P. 158-165.
151. White H.D., Yeaman G.R., Givan A.L., Wira C.R. Mucosal immunity in the human female reproductive tract: cytotoxic T lymphocyte function in the cervix and vagina of premenopausal and postmenopausal women // Am. J. Reprod. Immunol. - 1997.- Vol. 37, N 1. - P. 30-38.
152. Rakasz I., Hagen M., Sandor M., Lynch R.G. Gamma delta T cells of the murine vagina: T cell response in vivo in the absence of the expres-

sion of CD2 and CD28 molecules // *Int. Immunol.* - 1997.- Vol. 9, N 1. - P. 161-167.

153. Wira C.R., Fossoll R.M. Antigen-presenting cells in the female reproductive tract: influence of sex hormones on antigen presentation in the vagina // *Immunology.* - 1995. - Vol. 84, N 4. - P. 505-508.

154. Rein M.F., Shin L.M., Miller J.R., Guerrant R.L. Use of lactoferrin assay in the differential diagnosis of female genital tract infections and implications for the pathophysiology of bacterial vaginosis // *Sex. Transm. Dis.* - 1996. - Vol. 23, N 6.- P. 517-521.

155. Смольникова Л.А. Клинико-иммунологические особенности бактериального вагиноза у беременных: дис. ... к.м.н. - Челябинск, 1999.- 182 с.

156. Mutwiri G.K., Corbeil L.B. Genital and systemic immune responses in a murine model of *Trichomonas foetus* infection // *J. Parasitol.* - 1998. - Vol. 84, N 2. - P. 321-327.

157. Takehara K. Local immune responses in uterine cervical carcinogenesis // *Nippon. Sanka. Fujinka. Gakkai. Zasshi.* - 1996. - Vol. 48, N 11. - P. 1063-1070.

158. Долгушин И.И., Телешева Л.Ф., Савочкина А.Ю., Маркина О.В. Провоспалительные цитокины цервикального секрета и сыворотки крови у женщин с генитальной инфекцией // *Журнал микробиологии.* - 2004. - № 4. - С. 12-16.

159. Батрак М.В., Сотникова Н.Ю. Сравнительная характеристика продукции цитокинов фагоцитарными клетками на системном и локальном уровне у здоровых фертильных женщин // *Цитокины и воспаление.* - 2002. - № 2. - С. 14.

160. Арипджанова Д.С. Показатели местного иммунитета у женщин папилломавирусной инфекцией шейки матки // 2-й Всемирный Конгресс по иммунопатологии и аллергии. - Аллергология и иммунология. - 2004. - № 1. - С. 187.

161. Кулинич С.И., Бурдуковская Т.Н. Цитокины цервикальной слизи как показатели воспаления при дисплазиях эпителия шейки матки у женщин, инфицированных туберкулезом // VII Российский форум «Мать и дитя», М., 2005. - С. 426.

162. Пономарева Ю.Н., Белокриницкая Т.Е., Далыгина Н.М., Бунина. Исследование цитокинов цервикального секрета при поражении шейки матки, ассоциированных с генитальными инфекциями // VII Российский форум «Мать и дитя», М., 2005. - С. 500.

163. Chen C.K., Huang S.C., Chen C.L. et al. Increased expressions of CD69 and HLA-DR but not of CD25 or CD71 on endometrial T lymphocyte of nonpregnant women // *Hum. Immunol.* - 1995.- Vol. 42, N 3. - P. 227-232.

164. Sanchez J., Buendia A.J., Salinas J. et al. Murine granulated metrial gland cells are susceptible to Chlamydia psittaci infection in vivo // *Infect. Immun.* - 1996. – Vol. 64, N 9. - P. 3897-3900.
165. Borczuk A.C., van Hoesen K.H., Factor S.M. Review and hypothesis: the eosinophil and peripartum heart disease (myocarditis and coronary artery dissection) coincidence or pathogenetic significance? // *Cardiovasc. Res.* - 1997.-Vol. 33, N 3. - P. 527-532.
166. Hunt J.S., Robertson S.A . Uterine macrophages and environmental programming for pregnancy success // *J. Reprod. Immunol.* - 1996. - Vol. 32, N 1. - P. 1-25.
167. Wang Y.Y., Tawfik O., Wood G.W. Endotoxin-induced abortion in mice is mediated by activated fetal macrophages // *J. Leukoc. Biol.* - 1998. - Vol. 63, N 1. - P. 40-50.
168. Телешева Л.Ф. Иммунологические факторы секретов репродуктивного тракта женщин: дис. ...д.м.н. – Челябинск, 2000. – 300 с.
169. Калинина Н.М., Давыдова Н.И., Эллиниди В.Н. и др. Показатели иммунитета у женщин с нарушением репродуктивной функции // *Цитокины и воспаление.* – 2002. - № 2. – С. 149.
170. Жданов А.В., Сосулина Л.Ю., Курбанова Д.Ф. и др. Уровень продукции мРНК цитокинов мононуклеарными клетками крови женщин с гнойно-воспалительными заболеваниями придатков матки // *Цитокины и воспаление.* – 2002. - № 2. – С. 147-148.
171. Каграманова Ж.А., Сускова В.С., Емец В.И., Малиновская В.В. Состояние иммунной и интерфероновой систем у больных воспалительными заболеваниями придатков матки // *Цитокины и воспаление.* – 2002. - № 2. – С. 148-149.
172. Царегородцева М.В., Туркаева Т.Н. Роль провоспалительных цитокинов в формировании аутоиммунного оофорита при персистирующей хламидийной инфекции // VII Российский форум «Мать и дитя», М., 2005. – С. 540-541.
173. Дисфункция эндотелия / Сб. науч. тр. под ред. В.Ф. Киричука, П.В. Глыбочко, А.И. Понаморёвой. – Саратов: Изд-во Саратовского гос. мед. ун-та, 2008. – 112 с.
174. Инфекционный процесс / Под ред. Н.П. Чесноковой, А.В. Михайлова. – М.: Академия естествознания, 2006. – 484 с.
175. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / под ред. Б.И. Кузника. – М.: Чита.: ЭкспрессИздательство, 2010. – 828 с.
176. Кузник, Б.И. Нетрадиционные представления о механизмах развития тромбгеморрагического синдрома и диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови / Б.И. Кузник // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2010. – №1(41). – С. 73–83.

177. Марков, Х.М. L- аргинин – оксид азота в терапии болезни сердца и сосудов / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – №6. – С. 87–92.
178. Марков, Х.М. Оксид азота и атеросклероз. Оксид азота, дисфункция сосудистого эндотелия и патогенез атеросклероза / Х.М. Марков // Кардиология. – 2009. – №11. – С. 64–70.
179. Общая патофизиология (с основами иммунопатологии) / Под ред. А.Ш. Зайчика, Л.П. Чурилова. – М.: СПб.: ЭЛБИ-СПб. – 2008. – 656 с.
180. Boo, Y.C. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase / Y.C. Boo, H. Jo // *Am. J. Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. 499–508.
181. Патофизиология / Под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольберга, О.И. Уразовой. – М.: ГЭОТАР-Москва, 2009. – Т.1. – 848 с.
182. Inflammatory cytokines inhibit ADAMTS-13 synthesis in hepatic stellate cells and endothelial cells / W.J. Cao, M. Niiya, X.W. Zheng et al. // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2008. – №7. – P. 1233–1235.
183. C-reactive protein induced endothelial microparticle generation in HUVECs is related to BH(4)-dependent NO formation / G.M. Wang, Y. Wang, J.Y. Huang et al. // *J. Vasc. Res.* – 2007. – Vol. 44 (3). – P. 241–248.
184. De Palma, C. Endothelial nitric oxide synthase activation by tumor necrosis factor- $\alpha$  / C. De Palma, F. Meacci, C. Perrotta et al. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 1. – P. 99–106.
185. Система гемостаза, лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы, воспалительные цитокины у больных с различными формами ишемической болезни сердца / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Говорин и др. // *Тромбоз, гемостаз и реология*, 2009.–№1.–С. 49–63.
186. Galleano, M. Nitric oxide and iron: effect of iron overload on nitric oxide production in endotoxemia / M. Galleano, M. Simontacchi, S. Puntarilo // *Mol. Asp. Med.* – 2004. – №25. – P. 141–154.
187. Зубаиров, Д.М. Роль клеточных микровезикул в свертывании крови / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова // *Забайкальский медицинский вестник.* – 2004. – №4. – С. 39–43.
188. Rabelink, T.J. Endothelial nitric oxide synthase / T.J. Rabelink, T.F. Luscher // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol.*–2006.–Vol. 2.–P. 267–271.
189. Barton, M. Endothelin: 20 years from discovery to therapy / M. Barton, M. Yanagisawa // *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*–2008.–Vol. 86.–P. 485–496.

190. Deanfield, J.T. Endothelial function and dysfunction testing and clinical relevance / J.T. Deanfield, J.P. Halcox, T.J. Rabelink // *Circulation*. – 2007. – Vol. 115. – P. 1285–1295.
191. Кузник, Б.И. Цитокины и система гемостаза. I. Цитокины и сосудистотромбоцитарный гемостаз / Б.И. Кузник // *Тромбоз, гемостаз и реология*. – 2012. – №2(50). – С. 12–23.
192. Bardak, Y. The demonstration of serum interleukin 6–8, tumor necrosis factor alpha, complement, and immunoglobulin levels in Behcet's disease with ocular involvement / Y. Bardak, B.C. Aridogan // *Ocul. Immunol. Inflamm.* – 2004. – Vol. 12 (1). – P. 53–58.
193. Кузник, Б.И. Аутоимунные механизмы регуляции системы гемостаза / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // *Сибирский онкологический журнал*. – 2005. – №1(13). – С. 88–95.
194. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Под ред. Д.А. Зубаирова. – М.: Казань, 2000. – 368 с.
195. Lopez, J.A. Receptors, rafts, and microvesicles in thrombosis and inflammation / J.A. Lopez, I. Del Conde, C.N. Shrimpton // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 8. – P. 1737–1764.
196. Microparticle-associated tissue factor activity in cancer patients with and without thrombosis / M.E. Tesselaar, F.P. Romijn, I.K. van der Linden et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol.7, №8. – P. 1421–1423.
197. Циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток и дисфункция сосудистого эндотелия / Руда М.М., Арефьева Т.И., Трипотень М.И. и др. // *Российский физиологический журнал*. – 2009. – Т. 95. – № 6. – С. 545–562.
198. Liekens, S. Angiogenesis: regulators and clinical applications / S. Liekens, E. De Clerco, E. Neyts // *Biochem. pharmacol.* – 2001. – Vol. 61. – P. 253–270.
199. Inflammatory diseases of blood vessels / Edited by G.S. Hoffman, C.M. Weyand. – М.: Marsel Dekker, inc.: New-York, 2002. – 815 p.
200. Кузник, Б.И. Цитокины и система гемостаза. II. Цитокины и коагуляционный гемостаз / Б.И. Кузник // *Тромбоз, гемостаз и реология*. – 2013. – №3(51). – С. 9–29.
201. Cytokines secreted by lymphokine-activated killer cell induce endogenous NO synthesis and apoptosis in DLD-1 colon cancer cell / J.Y. Kwak, M.K. Han, K.S. Choi et al. // *Cell. Immunol.* – 2000. – Vol. 203(2). – P. 84–94.
202. Scull, C. M. Macrophage proinflammatory cytokine secretion is enhanced following interaction with autologous platelets / C.M. Scull, W.D. Hays, T.H. Fischer // *J. Inflamm.* – 2010. – Vol. 7. – P. 53–57.
203. Белки острой фазы воспаления и маркеры эндотоксемии, их прогностическая значимость в гинекологической практике / Т.Г.

- Кондранина, В.С. Горин, Е.В. Григорьев, Степанов В.В., Молоткова Е.Д. // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2009. – №3. – С. 26–30.
204. Бицадзе, В.О. Тазовая боль в гинекологии / В.О. Бицадзе, А.Д. Макацария // *Гинекология*. – 2011. – Т. 13, №1. – С. 39–44.
205. Регуляторно-транспортные белки и цитокины в крови больных с заболеваниями матки / С.В. Шрамко, В.Н. Зорина, Л.Г. Баженова и др. // *Акушерство и гинекология*. – 2016. – №5. – С. 104–108.
206. Соколова, М.Ю. Тактика ведения больных, страдающих антифосфолипидным синдромом на этапе предгравидарной подготовки / М.Ю. Соколова // *Гинекология*. – 2009. – №2. – С. 43–46.
207. Subclinical pelvic inflammatory disease and infertility / H.C. Wiesenfeld, S.L. Hillier, L.A. Meyn et al. // *Obstet Gynecol.* – 2012. – Vol. 120. – P. 37–43.
208. Inflammation and thrombosis. In: *Thrombosis: Fundamental and Clinical Aspects* / Edited by Semeraro N., Colucci M et al. – M.: Leuven (Belgium) University Press, 2003. – 342 p.
209. Nelson, S. Thromboembolic events in pregnancy: pharmacological prophylaxis and treatment / S. Nelson, I. Greer // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2007. – Vol. 8 (17). – P. 2917–2931.
210. Кузник, Б.И. Нетрадиционные представления о механизмах развития тромбгеморрагического синдрома и диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови / Б.И. Кузник // *Тромбоз, гемостаз и реология*. – 2010. – №1(41). – С. 73–83.
211. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow / A. Bernardo, C. Ball, L. Nolasko et al. // *Blood*. – 2004. – Vol. 104. – P. 100–106.
212. Strukova, S. Blood coagulation dependent inflammation / S. Strukova // *Frontiers in Bioscience*. – 2006. – Vol. 11. – P. 59–80.
213. Vitkovsky, Y. Cytokine influence on lymphocyte-platelet adhesion / Y. Vitkovsky, A. Solpov, B. Kuznik // *Thrombosis and Haemostasis suppl.* – 2001. – №4. – P. 2711.
214. Симбирцев, А.С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций иммунной системы / А.С. Симбирцев // *Физиология и патология иммунной системы*. – 2004. – №10. – С. 3–9.
215. Hack, C.E. Derangements of coagulation and fibrinolysis in infectious diseases / C.E. Hack // *Contrib. Microbiol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 18–37.
216. Вихляева, Е.М. Миома матки / Е.М. Вихляева Е.М., Л.Н. Василевская. – М.: Медицина, 1991. – 160 с.
217. Vo N.-J. Uterine Artery Embolization: A Safe and Effective, Minimally Invasive, Uterine-Sparing Treatment Option for Symptomatic Fi-

broids [Text] /N.-J. Vo, A.R. Torrance // *Semin Intervent Radiol.* - 2008. - V. 25 (4). – P. 251-263.

218. Буянова, С.Н. Современные представления об этиологии патогенезе и морфогенезе миомы матки /С.Н. Буянова., М.В. Мгелиа-швили, С.А. Петракова // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – М. - 2006. -№ 6. - С.45-51.

219. Вихляева, Е.М. Руководство по диагностике и лечению леймиомы матки [Текст] / Е.М.Вихляева. – М.: МЕДпресс – информ, 2004. - 400 с.

220. Flake, G.P. Etiology and pathogenesis of uterine leiomyoma: new evidence and a systematic review [Text] / G.P.Flake, J.Andersen, D.Dixon // *Environ Health Perspect.* – 2003. - № 111. – P.1037 – 1054.

221. Рыжова, О.О. Патогенетические аспекты роста миома-тозных узлов [Текст] / О.О.Рыжова // *Миома матки / под ред. И.С.Сидоровой.* – М.: МИА, 2002. – С.98 - 112.

222. KovaAcs, K.A. Comparative analysis of cyclin D1 and oes-rogen receptor (a and b) levels in human leiomyoma and adjacent myometrium / K.A. KovaAcs, A. Oszter, P.M. GoEcze, J.L. KoErnyei and A.I. Szabo // *Mol Hum Reprod.* – 2001. – 7 – P. 1085 – 1091.

223. Harrison – Woolrich, M.L. Localisation and quantification of vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid in human myometrium and leiomiomata / M.L. Harrison – Woolrich, A.M. Sharkey, D.S. Charnock–Jones, S.K.Smith // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1995. – 80 (6). – P. 1853 – 1858.

224. Duan, C. Specifying the cellular responses to IGF signals: roles of IGFbinding proteins [Text] / C. Duan// *J. Endocrinol.* – 2002. - 175. - P. 41-54.

225. Van der Ven, L.T. Modulation of insulin-like growth factor (IGF) action by IGFbinding proteins in normal, benign, and malignant smooth muscle tissues / L.T. Van der Ven, S.C. Van Buul-Offers, T. Gloudemans, R.J. Bloemen, P.J. Roholl, J.S. Sussenbach, W. Den Otter // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1996. – № 81(10). – P. 3629 – 3635.

226. Arslan, A.A. Gene expression studies provide clues to the pathogenesis of uterine leiomyomata: new evidence and a systematic review [Text] / A.A. Arslan, L.I. Gold, K. Mittal et al. // *Hum Reprod.* – 2005. – 20 (4). – P. 852 – 863.

227. Lee, B.S.Human leiomyoma smooth muscle cells show in-creased expression of transforming growth factor –  $\beta$ 3 (TGF  $\beta$ 3) and altered responses to the antiproliferative effects of TGF  $\beta$ 1[Text] / B.S. Lee, R.A. Nowak // *J. Clin. Endocrinol & Metab.* – 2001. – 86(2). – P.913 – 920.

228. Skubitz, K.M. Differential gene expression in uterine leiomyoma [Text] / K.M. Skubitz and A.P. Skubitz // J. Lab. Clin. Med. – 2003. – 141. – P. 297 – 308.
229. Ichii, T. Fibrillar collagen specifically regulates differential gene expression in uterine leiomyoma 861 human vascular smooth muscle cell genes involved in cellular responses and the pericellular matrix environment [Text] / T. Ichii, H. Koyama, S. Tanaka, S. Kim, A. Shioi, Y. Okuno, E.W. Raines, H. Iwao, S. Otani and Y. Nishizawa// Circ. Res. – 2001. – 88. – P. 460 – 467.
230. Wu, X. Expression of basic fibroblast growth factor (bFGF), FGF receptor 1 and FGF receptor 2 in uterine leiomyomas and myometrium during the menstrual cycle, after menopause and GnRHa treatment [Text] // X. Wu, A. Blanck, M. Olovsson, B. Moller, B. Lindblom // Acta Obstet Gynecol. Scand. – 2001. – 80. – P. 497 – 504.
231. Басина, Е.И. Характеристика естественных аутоантител у больных с миомой матки в репродуктивном возрасте [Текст]: Дис. ... канд. мед. наук / Е.И. Басина. - Самара, 2016 - 171 с.
232. Кулаков, В.И. Миомэктомия и беременность [Текст] / В.И. Кулаков, Г.С. Шмаков. - М.: МЕДпресс – информ. – 2001. – 344 с.
233. Татарчук, Т.Ф. Эндокринная гинекология [Текст] / Т.Ф. Татарчук, Я.П. Сольский. – Киев: Заповг, 2003. – 301
234. Рогожина, И.Е. Влияние эмболизации маточных артерий на систему гемостаза у больных с миомой матки [Текст] / И.Е.Рогожина, Н.Ф.Хворостухина // Клиническая медицина . – 2011. - № 3(19). – С.99 – 105.
235. Савельева, Г.М. Гинекология [Текст] / Г.М. Савельева, В.Г. Бреусенко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 474 с.
236. Топчий, Н.В. Ликвидация дисбиоза - возможность профилактики заболеваний в общей врачебной практике [Текст] / Н.В. Топчий // Русский медицинский журнал. - 2007. - Т. 15. - № 16. - С. 4-10.
237. Сидорова, И.С. Современный взгляд на патогенез миомы матки [Текст] / И.С. Сидорова, С.А. Леваков // Акушерство и гинекология. – 2006. – Приложение. - С. 30-33.
238. Стрижаков, А.Н. Доброкачественные заболевания матки [Текст] / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов, В.М. Пашков, В.А. Лебедев. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 281с.
239. Гостищев, В.К. Пути и возможности профилактики инфекционных осложнений в хирургии [Текст] / В.К. Гостищев // В сб.: «Рациональные подходы к профилактике инфекционных осложнений в хирургии». М., 1997. - С.2-11.
240. Ефремов, А.В. Состояние гуморального иммунитета у женщин при опухолевых заболеваниях матки / А.В. Ефремов, Н.А. Мат-

веевский, А.Н. Трунов, И.Д. Сафронов // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2011. – Т.5. - № 2. –С.13 – 15.

241. Савицкий, Г.А. Миома матки. Проблемы патогенеза и патогенетической терапии [Текст] / Г.А.Савицкий, А.Г.Савицкий. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 340с.

242. Малышкина, А.И. Миома матки: новое в патогенезе и лечении / А.И.Малышкина, Н.Ю.Сотникова, Ю.С.Анциферова [и др.] // Материалы V регионального науч. форума «Мать и дитя». – Геленджик, 2011. – С.237 – 238.

243. Полетаев, А.Б. Молекулярная диспансеризация (новые подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека) [Текст] / А.Б. Полетаев. - М., 2014. – 84с.

244. Межлумова Н.А., Бобров М.Ю., Адамян Л.В. Биомаркеры эндометриоза: проблемы и возможности ранней диагностики рецидивов заболевания. Проблемы репродукции, 2018;24(6):139-148.

245. Адамян Л.В., Гаспарян С.А. Генитальный эндометриоз. Современный взгляд на проблему. Монография. Ставрополь: СГМА; 2004.

246. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы. Руководство для врачей. Изд. 2-е. М: Медицина; 2006.

247. May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review. Human Reproduction Update. 2010;16(6):651-674

248. May KE, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Endometrial alterations in endometriosis: A systematic review of putative biomarkers. Human Reproduction Update. 2011;17(5):637-653.

249. Nisenblat V, Prentice L, Bossuyt PM, Farquhar C, Hull ML, Johnson N. Combination of the non-invasive tests for the diagnosis of endometriosis (review). The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016;7:CD012281.

250. Vicente-Muñoz S, Morcillo I, Puchades-Carrasco L, Payá V, Pellicer A, Pineda-Lucena A. Pathophysiological processes have an impact on the plasma metabolomic signature of endometriosis patients. Fertility and Sterility. 2016;106(7):1733-1741.

251. Vicente-Muñoz S, Morcillo I, Puchades-Carrasco L, Payá V, Pellicer A, Pineda-Lucena A. Nuclear magnetic resonance metabolomic profiling of urine provides a noninvasive alternative to the identification of biomarkers associated with endometriosis. Fertility and Sterility. 2015;104(5):1202-1209

252. Vodolazkaia A et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. Human Reproduction. 2012;27(9):2698-2711

253. Kyama CM, Mihalyi A, Gevaert O, Waelkens E, Simsa P, Van de Plas R, Meuleman C, De Moor B, D'Hooghe TM. Evaluation of endometrial biomarkers for semi-invasive diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2011;95(4):1338-1343.
254. Becker CM, D'Amato RJ. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in endometriosis. *Microvasc Research*. 2007;74:121-130.
255. Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Altered circulating levels of matrix metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors and effect of progesterone supplementation in women with endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. 2013;100(1):127-134
256. Xavier P, Belo L, Beires J, Rebelo I, Martinez-de-Oliveira J, Lunet N, Barros H. Serum levels of VEGF and TNF-alpha and their association with C-reactive protein in patients with endometriosis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2006;273(4):227-231.
257. Bourlev V, Ijasova N, Adamyan L, Larsson A, Olovsson M. Signs of reduced angiogenic activity after surgical removal of deeply infiltrating endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2010;94(1):52-57.
258. Hapangama DK, Turner MA, Drury JA, Quenby S, Martin-Ruiz C. Endometriosis is associated with aberrant endometrial expression of telomerase and increased telomere length. *Fertility and Sterility*. 2008;23(7):1511-1519
259. Kalu E, Sumar N, Giannopoulos T, Patel P, Croucher C, Sherriff E, Bansal A. Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2007;33:490-495.
260. Socolov R, Butureanu S, Angioni S, Sindilar A, Boiculese L, Cozma L, Socolov D. The value of serological markers in the diagnosis and prognosis of endometriosis: a prospective case-control study. *European Journal of Obstetric, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2011;154(2):215-217.
261. Othman EEDR, Homung D, Salem HT, Khalifa EA, El-Metwally TH, Al-Hendy A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *European Journal of Obstetric, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2008;137(2):240-246.
262. Ercan C, Sakinci M. Antimullerian hormone levels after laparoscopic endometrioma. *Gynecological Endocrinology*. 2010;26(6):468-472.
263. Kocbek V, Vouk K, Mueller MD, Rižner TL, Bersinger N. Elevated glycodelin-A concentrations in serum and peritoneal fluid of women with ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(5):455-459.

264. Burney RO, Hamilton AE, Aghajanova L, Vo KC, Nezhat CN, Lessey BA, Giudice LC. MicroRNA expression profiling of eutopic secretory endometrium in women with versus without endometriosis. *Molecular Human Reproduction*. 2009;15:625-631.
265. Seppala MKH, Koistinen R, Hautala L, Chiu PC, Yeung WS. Glycodelin in reproductive endocrinology and hormone-related cancer. *European Journal of Endocrinology*. 2009;160(2):121-133.
266. Kim VN. Small RNAs: classification, biogenesis, and function. *Molecular Cells*. 2005;19:1-15.
267. Jia SZ, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are downregulated in women with endometriosis. *Human Reproduction*. 2013;28(2):322-330.
268. Suryawanshi S et al. Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(5):1213-1224.
269. Polak G, Wertel I, Barczyński B, Kwaśniewski W, Bednarek W, Kotarski J. Increased levels of oxidative stress markers in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. 2013;168(2):187-190/
270. Yun BH, et al. Evaluation of elevated urinary enolase I levels in patients with endometriosis. *Biomarkers*. 2014;19(1):16-21.
271. Cho S, et al. Urinary vitamin D-binding protein is elevated in patients with endometriosis. *Human Reproduction*. 2012;27(2):515-522.
272. Cho SH, et al. Evaluation of serum and urinary angiogenic factors in patients with endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007;58(6):497-504.
273. Wingeld M, O’Herilhy C, Finn MM, Tallon DF, Fottrell PF. Follicular and luteal phase salivary progesterone in women with endometriosis and infertility. *Gynecological Endocrinology*. 1994;8(1):21-25.
274. Petrelluzzi KF, Garcia MC, Petta CA, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratsch R. Salivary cortisol concentrations and quality of life in women with endometriosis and chronic pelvic pain. *Stress*. 2008;11(5):390-397.
275. Филиппова Е.С., Межлумова Н.А., Гамисония А.М., и др. Профилирование микроРНК и мРНК в тканях эутопического и эктопического эндометрия при эндометриоидных кистах яичников. Проблемы репродукции. 2019;25(2):27-45.
276. Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, Bartel DP. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature*. 2010;466(7308):835-840.
277. Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annual Review of Biochemis-*

try. 2010;79(1):351-379.

278. Kloosterman WP, Plasterk RHA. The Diverse Functions of MicroRNAs in Animal Development and Disease. *Developmental Cell*. 2006; 11(4):441-450.

279. Ng YH, Rome S, Jalabert A, Forterre A, Singh H, Hincks CL, Salamonsen LA. Endometrial exosomes/ microvesicles in the uterine microenvironment: A new paradigm for embryo-endometrial cross talk at implantation. *PLoS One*. 2013;8(3):58502.

280. Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, Chegini N. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. *Molecular Human Reproduction*. 2007;13:797-806.

281. Kuokkanen S, Chen B, Ojalvo L, Benard L, Santoro N, Pollard JW. Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. *Biology of Reproduction*. 2010;82:791-801.

282. Braicu C, Tomuleasa C, Monroig P, Cucuianu A, Berindan-Neagoe I, Calin GA. Exosomes as divine messengers: are they the Hermes of modern molecular oncology? *Cell Death and Differentiation*. 2015; 22(1):34-45.

283. Braza-Boils A, et al. Peritoneal fluid modifies the microRNA expression profile in endometrial and endometriotic cells from women with endometriosis. *Human Reproduction*. 2015;30(10):2292-2302.

284. Yang X, et al. Differentially expressed plasma microRNAs in premature ovarian failure patients and the potential regulatory function of mir-23a in granulosa cell apoptosis. *Reproduction*. 2012;144:235-244.

285. Kim YJ, et al. MicroRNAs transfected into granulosa cells may regulate oocyte meiotic competence during in vitro maturation of mouse follicles. *Human Reproduction*. 2013;28:3050-3061.

286. Monsanto SP, Edwards AK, Zhou J, Nagarkatti P, Nagarkatti M, Young SL, Lessey BA, Tayade C. Surgical removal of endometriotic lesions alters local and systemic proinflammatory cytokines in endometriosis patients. *Fertility and Sterility*. 2016;105(4):968-977.

287. Lawson C, Al-Akoum M, Maheux R, Akoum A. Increased expression of interleukin-1 receptor type 1 in active endometriotic lesions. *Reproduction*. 2007;133(1):265-274.

288. Tosato G, Jones KD. Interleukin-1 induces interleukin-6 production in peripheral blood monocytes. *Blood*. 1990;75(6):1305-1310.

289. Akoum A, Lawson C, McColl S, Villeneuve M. Ectopic endometrial cells express high concentrations of interleukin (IL)-8 in vivo regardless of the menstrual cycle phase and respond to oestradiol by up-regulating IL-1-induced IL-8 expression in vitro. *Molecular Human Reproduc-*

tion. 2001;7(9):859-866.

290. Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, Meng YG, Taylor RN. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 $\beta$ . *Molecular Human Reproduction*. 2000;6:269-275.

291. Chishima F, Hayakawa S, Sugita K, Kinukawa N, Aleemuz-zaman S, Nemoto N, Yamamoto T, Honda M. Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2002;48(1):50-56.

292. Ota H, Igarashi S, Sasaki M, Tanaka T. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human Reproduction*. 2001;16(3):561-566

293. Wu MH, Lu CW, Chuang PC, Tsai SJ. Prostaglandin E2: the master of endometriosis? *Experimental Biology and Medicine*. 2010; 235(6):668-677.

294. Kouro T, Takatsu K. IL-5 and eosinophil-mediated inflammation: from discovery to therapy. *International Immunology*. 2009;21(12): 1303-1309.

295. Yang Y, Xiao X, Li F, Du L, Kijlstra A, Yang P. Increased IL-7 expression in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2012;53(2):1012-1017.

296. Eisenberg VH, Zolti M, Soriano D. Is there an association between autoimmunity and endometriosis? *Autoimmunity Reviews*. 2012;11(11):806-814.

297. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simon C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertility and Sterility*. 1998;70:425-431.

298. Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Human Reproduction Update*. 2000;6:67-74.

299. Pellicer A, Albert C, Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*. 2000;55:109-119.

300. Saito H, Seino T, Kaneko T, Nakahara K, Toya M, Kurachi H. Endometriosis and oocyte quality. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2002;53(Suppl 1):46-51.

301. Yoshida S, et al. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Human Reproduction*. 2004;19(8):1821-1825.

302. Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2006;13:467-476.
303. Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update*. 2001;7:175-189.
304. Mansour G1, et al. L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2009;91(5 Suppl):2079-2086.
305. Han SJ, O'Malley BW. The dynamics of nuclear receptors and nuclear receptor coregulators in the pathogenesis of endometriosis. *Human Reproduction Update*. 2014;20(4):467-484.
306. Bulun SE, et al. Estrogen receptor-beta, estrogen receptor-alpha, and progesterone resistance in endometriosis. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2010;28(1):36-43.
307. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2006;248(1-2):94-103.
308. Reis FM, Petraglia F, Taylor RN. Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis. *Human Reproduction Update*. 2013;19(4):406-418.
309. Susheelamma CJ, Pillai SM, Asha Nair S. Oestrogen, progesterone and stem cells: the discordant trio in endometriosis? *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2018;20:e2.
310. Barragan F, et al. Human endometrial fibroblasts derived from mesenchymal progenitors inherit progesterone resistance and acquire an inflammatory phenotype in the endometrial niche in endometriosis. *Biology of Reproduction*. 2016;94(5):118.
311. Lessey BA, Kim JJ. Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis: it is affected, and let me show you why. *Fertility and Sterility*. 2017;108(1):19-27.
312. Pant A, Lee II, Lu Z, Rueda BR, Schink J, Kim JJ. Inhibition of AKT with the orally active allosteric AKT inhibitor, MK-2206, sensitizes endometrial cancer cells to progesterin. *PLoS One*. 2012; 7:e41593.
313. Eaton JL, Unno K, Caraveo M, Lu Z, Kim JJ. Increased AKT or MEK1/2 activity influences progesterone receptor levels and localization in endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2013;98:E1871-1879.

314. Su RW, et al. Decreased Notch pathway signaling in the endometrium of women with endometriosis impairs decidualization. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2015; 100(3):E433-E442
315. Тихончук Е.Ю., Асатурова А.В., Адамян Л.В. Частота выявления и структура патологических изменений эндометрия у женщин репродуктивного возраста с генитальным эндометриозом. *Акушерство и гинекология*. 2016;12:87-95.
316. Сидорова И.С., Шешукова Н.А., Закаблукова С.В. Патология эндометрия при наличии миомы матки. *Гинекология*. 2006;4:57-60.
317. Павловская М.А. Гиперплазия эндометрия у женщин фертильного возраста: клиника, диагностика, патогенез и возможности терапии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2015;2(50):123-127.
318. Бантыш Б.Б. Выявление информативных визуальных факторов по изображениям с гистологических препаратов при железистой гиперплазии эндометрия. *Вестник новых медицинских технологий*. 2006;8(4):122-124.
319. Носенко Е.Н., Малова Ю.А., Гошкодеря И.Ю., Селезнев А.А., Постолюк И.Г. Некоторые характеристики рецептивности и реактивных свойств эндометрия у пациенток с простой неатипической гиперплазией эндометрия. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2008;9(2):179-183.
320. Чепик О.Ф. Морфогенез гиперпластических процессов эндометрия. *Практическая онкология*. 2004;5(1):9-12.
321. WHO Classification of Tumors. Pathology and Genetics. Tumors of the Breast and Female genital organs. Lyon: IARC Press; 2003.
322. Emons G, Beckmann MW, Schmidt D, Mallmann P; Uterus commission of the Gynecological Oncology Working Group (AGO). New WHO classification of endometrial hyperplasias. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2015;75(2):135-136.
323. Коган Е.А. Морфологические и иммуногистохимические параллели при гиперплазиях эндометрия. *Архив патологии*. 2007;6:21-24.
324. Masjeed NMA, Khandeparkar SGS, Joshi AR, Kulkarni MM, Pandya N. Immunohistochemical Study of ER, PR, Ki67 and p53 in endometrial hyperplasias and endometrial carcinomas. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;11(8):31-34.
325. Mutter G, Ferenczy A. Endometrial hyperplasia and neoplasia: definition, diagnosis, and management principles. *Global library of women's medicine*; 2008. Accessed June 1, 2018.
326. Moore E, Shafi M. Endometrial hyperplasia. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*. 2013;23(3):88-93.

327. International Classification of Diseases 10th Revision, World Health Organization; 2010. Accessed June 1, 2018.
328. Завалко А.Ф., Котельникова Н.А. Гиперплазия эндометрия - патогенетические аспекты, классификация и распространенность патологии среди пациенток репродуктивного возраста (обзор литературы). Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, врач и здоровье. 2016;1:22-27.
329. Zaino RJ, Kauderer J, Trimble CL, Silverberg SG, Curtin JP, Lim PC, Gallup DG. Reproducibility of the diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer*. 2006;106(4):804-811.
330. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Eng C. Changes in endometrial PTEN expression throughout the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2000; 85(6):2334-2338.
331. Махина Е.В., Пичигина А.К., Колдышева Е.В., Молодых О.П., Лушникова Е.Л. Диагностическая и прогностическая значимость оценки пролиферативной активности клеточных популяций эндометрия при гиперпластических и неопластических процессах. Фундаментальные исследования. 2014;10(2):420-427.
332. Киселев В.И., Ляшенко Л.А. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов. М.: Димитрейд График Групп; 2005
333. Deligdisch L. Hormonal pathology of the endometrium. *Modern Pathology*. 2000;13(3):285-294.
334. Silverberg SG. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Modern Pathology*. 2000 Mar; 13(3):309-327.
335. Gunin AG, Mashin IN, Zakharov DA. Proliferation, mitosis orientation and morphogenetic changes in the uterus of mice following chronic treatment with both estrogen and glucocorticoid hormones. *The Journal of Endocrinology*. 2001;169(1):23-31.
336. Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai R. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2016;27(1):8-15.
337. Прилепская В.Н. Перименопауза и гормоны. Проблемы репродукции. Специальный выпуск. 2009;S:207-210.
338. Huang GS, Arend RC, Li M, Gunter MJ, Chiu LG, Horwitz SB, Goldberg GL. Tissue microarray analysis of hormonal signaling pathways in uterine carcinosarcoma. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2009;200(4):457.e1-457.e5.

339. Макаров И.О., Шешукова Н.А., Федотова А.С. Молекулярно-биологический профиль при гиперпластических процессах эндометрия. Гинекология. 2012;14(1):17-19.
340. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrine Reviews*. 2013;34(1):130-162.
341. Chistyakova GN, Remizova II, Melkozerova OA, Pogorelko DV, Dankova IV, Esareva AV. Local immunity status and apoptosis reactions in endometrium of women with a history of non-developing pregnancy. *Annals of Clinical and Laboratory Research*. 2017;5(3): 198. Accessed June 1, 2018.
342. Жданов А.В., Сухих Г.Т., Давыдова М.П., Слукина Т.В., Чернуха Г.Е., Самойлова Т.Е., Сметник В.П. Особенности корреляционных связей в системе цитокинов и гиперплазия эндометрия. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003;136(3):309-311.
343. Vaskivuo TE, Stenbäck F, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related factors Bcl-2, Bax, tumor necrosis factor-alpha, and NFκappaB in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer*. 2002; 95(7):1463-1471.
344. Tabibzadeh S, Satyaswaroop PG, von Wolff M, Strowitzki T. Regulation of TNF-alpha mRNA expression in endometrial cells by TNF-alpha and by oestrogen withdrawal. *Molecular Human Reproduction*. 1999;5:1141-1149.
345. Salama SA, Kamel MW, az-Arrastia CR, Xu X, Veenstra TD, Salih S, Botting SK, Kumar R. Effect of tumor necrosis factor-alpha on estrogen metabolism and endometrial cells: potential physiological and pathological relevance. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009;94(1):285-293.
346. Laursen LS, Kjaer-Sorensen K, Andersen MH, Oxvig C. Regulation of insulin-like growth factor (IGF) bioactivity by sequential proteolytic cleavage of IGF binding protein-4 and -5. *Molecular Endocrinology*. 2007;21(5):1246-1257.
347. Bruchim I, Sarfstein R, Werner H. The IGF hormonal network in endometrial cancer: functions, regulation, and targeting approaches. *Frontiers in Endocrinology*. 2014;5:76-82.
348. McCampbell AS, Broaddus RR, Loose DS, Davies PJ. Overexpression of the insulin-like growth factor I receptor and activation of the AKT pathway in hyperplastic endometrium. *Clinical Cancer Research*. 2006;12(21):6373-6378
349. Graham et al. Connexins and Pannexins: Important Players in Tumorigenesis, Metastasis and Potential Therapeutics // *Int J Mol Sci*. 2018
350. Sobel et al. «Claudin 1 differentiates endometrioid and serous papillary endometrial adenocarcinoma» *Gynecol Oncol*. 2006

351. Abouhashem et al. Prognostic implications of epithelial to mesenchymal transition related proteins (E-cadherin, Snail) and hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  in endometrioid endometrial carcinoma // *Ann Diagn Pathol.* 2016
352. Carico et al. E-cadherin and alpha-catenin expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium // *Anticancer Res.* 2010
353. Saito et al. Overexpression of estrogen receptor-alpha gene suppresses gap junctional intercellular communication in endometrial carcinoma cell // *Oncogene.* 2004
354. Kobayashi et al. Mutations of the beta-catenin gene in endometrial carcinomas // *Jpn J Cancer Res.* 1999.
355. Hsiao-Chen Chiu et al. Epithelial to Mesenchymal Transition and Cell Biology of Molecular Regulation in Endometrial Carcinogenesis // *J. Clin. Med.* 2019.
356. Справочник по иммунотерапии для практического врача / Под ред. А.С. Симбирцева. – Изд-во «Диалог», 2002. – С. 88.
357. Сепиашвили Р.И. Иммуномодулирующие препараты в клинической практике: классификация, основные принципы и методы применения, показания и противопоказания // *Аллергология и иммунология.* – 2015. – Том 16. № 2. – с. 189-195.
358. Сатыбалдиева Ж.А., Кабденова А.Т., Жумабаева Б.А. Иммуномодуляторы: принципы применения и классификация // *Фармация Казахстана.* – 2007. - № 8. – С.29-30.
359. Терапевтические вакцины / Семенов Б.Ф., Егорова Н.Б., Семенова И.Б. и соавт. // *Рос.мед.вестн.* – 2000. - № 3. – С. 26-32.
360. Беседнова Н.Н., Иванушко Л.А., Звягинцева Т.Н. и др. Иммунотропные свойства 1,3/1,6- $\beta$ -D-глюкоанов. // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2000. - № 2. – С. 37–44.
361. Гордон К.В. Современные технологии восстановительного лечения больных с хроническими воспалительными болезнями женских половых органов на курортах Причерноморья: автореф. ... д.м.н. - Томск, 2004. – 51 с.
362. Мельникова А.Б. Комплексная диагностика и обоснование детоксикации при острых воспалительных заболеваниях придатков матки: автореф...к.м.н. – Смоленск, 2000. 20 с.
363. Патогенетическое обоснование использования препарата системной энзимотерапии «Вобэнзим» в лечении хронических сальпингоофоритов / Стрижова Н.В. и соавт. // *Тюменск. Мед.журнал.* – 2002. - № 2. – С. 10-13.
364. Растегаева И.Н. Клинико-патогенетическое обоснование применения препарата системной энзимотерапии и комбинации естественных цитокинов в комплексном лечении хронических сальпингофо-

ритов: дис...к.м.н. – М., 2001. – 119 с.

365. Малышева Е.В. Комплексная диагностика и лечение больных острым сальпингоофоритом с применением интенсивной ультразвуковой терапии: дис...к.м.н. – М., 2004. – 137 с.

366. Педдер В.В., Зуев В.М., Полякова О.Б. Лимфогенная и озono-ультразвуковая терапия хронических сальпингоофоритов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. - № 3. – С. 35-39.

367. Исаев А.К. Сочетанная магнитолазерная и озонотерапия в комплексном лечении больных с острым сальпингоофоритом // Вестник РУДН. – 2002. - № 3. – С. 87-92.

368. Бурдейный А.В. Комплексное лечение больных хроническим сальпингоофоритом с использованием микроволновой резонансной терапии: дис...к.м.н. – Иваново, 1999. – 189 с.

369. Агаркова Л.А. Способ лечения воспалительных процессов органов малого таза с применением факторов физического воздействия: дис...к.м.н. – Томск, 2000. – 114 с.

370. Миорова А.Б. Трансцеребральная интерференцтерапия в восстановительном лечении больных хроническим сальпингоофоритом // Акушерство и гинекология. – 2005. - № 3. – С. 27-30.

371. Laser therapy in the complex physiotherapy of patients with a chronic salpingo-oophoritis and a pain syndrome / Bogdashkin N., Korobov A., Krasnov., Palamarchuk O. // Труды 8 Междунар. конгресса Евр. Медич. лазерной ассоциации (EMLA) и 1 Рос. конгресса мед.лазерной ассоциации. - М, 2001. – С. 122-123.

372. Касканова А.М. Действие минеральной воды санатория «Коктем» на микрофлору влагалища при вульвовагинитах // Материалы научно-практ.конф. по курортологии. - Алматы, 2005. – С. 83-84.

373. Сапаргалиев Е.М., Сапаргалиева Л.А., Кравченко М.М. и соавт. Природные минеральные сорбенты в медицине // Тагансорбент – природный минерал в медицине: Материалы двух Республиканских науч.-практ. Конф. - Усть-Каменогорск: Изд-во ВКГУ, 2001. – С. 5-16 2001.

374. Евсеева М.М., Серов В.Н. Применение пеллоидных препаратов в комплексном лечении воспалительных заболеваний влагалища и шейки матки // VII Российский форум «Мать и дитя», М., 2005. - С.379-380.

375. Старченко А.А. Общая характеристика иммуностропных препаратов // Справочник по иммунотерапии для практического врача / Под ред. А.С. Симбирцева. – Изд-во «Диалог», 2002. - С. 100-151.

376. Романцов М.Г., Ершов Ф.И., Голубев С.Ю., Коваленко А.Л. Рыбалкин С.Б. Индукторы интерферона // Иммунология. – 1998. - № 6. - С.43.

377. Локтина И.П. Применение иммуномодулятора полиоксидония при хронических воспалительных заболеваниях придатков матки в стадии обострения: автореф. ...к.м.н. – Новосибирск, 2003. - 22 с.
378. Исаков В.А., Сельков С.А., Мошетьова Л.К. и соавт. Современная терапия герпесвирусных инфекций. – СПб., 2004. – С. 144-145.
379. Романова Г.И., Дарсалия И.А., Романова Н.В. Сравнительная оценка эффективности иммуномодуляторов в лечении урогенитальных инфекций // X Российский Национальный Конгресс «Человек и лекарство», 7-11 апреля 2003, Москва. – С. 331.
380. Каплина Э.Н., Вайнберг Ю.П. Деринат. Природный иммуномодулятор для детей и взрослых. – М., 2005. - 129-130.
381. Аспетов Д.Р., Федотов Е.Р., Аспетов Р.Д. и др. Терапевтическая эффективность усовершенствованного индуктора интерферона бактериального жидкого при лабиальном и половом герпесе // Гигиена, эпидемиология и иммунобиология. – 2002. - № 1-2. - С.65-68.
382. Русакевич П.С., Шмак К.И., Гришанович Р.В. Вирусные изменения шейки матки, ассоциированные с доброкачественными и предраковыми поражениями: новые возможности лечения и профилактики // Медицинские новости. – 2010. - № 3. - с. 2-7.
383. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). - М.: Геотар-Медиа, 2005.
384. Корсунский В.Н., Брускин А.Б., Денисов Л.А., Иванов Р.А. Сравнительное изучение фармакокинетики различных лекарственных форм интерферона-альфа-2b. // Эффективная фармакотерапия. – 2007. - № 1.
385. Серов В.Н., Шаповаленко С.А., Флакс Г.А. Современный метод лечения генитальных инфекций // АГ-инфо. – 2006. - № 1.
386. Перепанова Т.С., Шевелев А.Н., Сорока И.В., Дунец К.А., Горельшева Н.Е. Клиническая эффективность интерферонотерапии в составе комплексного лечения хронического цистита. // РМЖ. – 2012. - № 26.
387. Tong M., Blatt L., Klein M. et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C virus infected patients treated with consensus interferon // Gastroenterology, 1995. – № 108. – P. 188.
388. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Юдина СМ. и др. Суперлимф - новый иммуномодулятор с прямым противовирусным действием. Опыт клинического применения в комплексном лечении герпетической инфекции // Иммунология репродукции - Russian J. Immunol. – 2005. - 9 (Supp. 2). – С.37-42.
389. Егорова В.Н., Елькин А.В., Журкин А.Т., Козлов В.К., Лобзин Ю.В., Смирнов М.Н., Тимченко В.Н. Коррекция Ронколейкином иммунной недостаточности при инфекционной патологии // Terra Medica.

- 2001. - № 1. – С. 7-9.

390. Симбирцев А.С. Медицинские препараты на основе белков семейства интерлейкина-1 // Справочник по иммунотерапии для практического врача / Под ред. А.С. Симбирцева. – Изд-во «Диалог», 2002. – С.152-157.

391. Спирина Г.К., Молочков В.А., Симбирцев А.С. Беталейкин в терапии хронического осложненного урогенитального хламидиоза // Иммунопатология, аллергол., инфектол. – 2002. - № 3. – С. 86-93.

392. Мукозальные и системные изменения состояния иммунной системы у женщин с сальпингоофоритом и попытка их коррекции препаратом КИПферон / Архипов С.Н. и соавт. // Мед. иммунология. – 2003. - № 3-4. – С. 420.

393. Алсынбаев М.М. Направленная иммунокоррекция при лечении и профилактике гнойно-воспалительных заболеваний иммуномодуляторами эндогенной природы (лейкоцитарный интерферон, внутривенный иммуноглобулин, церулоплазмин): дис...д.м.н. – Челябинск, 2003. - 176 с.

394. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016;39(1):98–106.

395. Wolchok JD, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med.* 2013;369(2):122–33.

396. Stucci S, et al. Immune-related adverse events during anti-cancer immunotherapy: pathogenesis and management. *Oncol Lett.* 2017;14(5):5671–80.

397. Brahmer JR, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol.* 2018;36(17):1714–68